

**Untersuchungen über die Brauchbarkeit eines
Schnelltestes zur semiquantitativen Bestimmung
des Blut-Kalziumgehaltes beim Rind**

Axel Linhart

aus

Grafring b. München

München 1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Kleintiere)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr.Dr.h.c. G. Dirksen

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BRAUCHBARKEIT EINES SCHNELLTESTES
ZUR SEMIQUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES BLUT-KALZIUMGEHALTES
BEIM RIND

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Axel Linhart
aus
Grafing b. München

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. G. Dirksen

Korreferent: Prof. Dr. H.P. Jennissen

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	3
LITERATURÜBERSICHT	5
Die Bedeutung des Kalziums im Körperstoffwechsel des Säugetiers	5
Die Regulation der Plasma-Kalziumkonzentration beim Säugetier	6
Physiologische Schwankungen des Blut-Kalziumwertes und die sogenannte "physiologische Hypokalzämie" beim Rind	9
Ätiologie und Pathogenese der Hypokalzämischen Gebärlähmung des Rindes	9
Erscheinungsbild der Hypokalzämischen Gebärlähmung des Rindes	10
"Festliegen im engeren Sinne", d.h. im zeitlichen Zusammenhang mit dem Kalbevorgang beim Rind	13
"Festliegen im weiteren Sinne", d.h. außerhalb des Abkalbezeitraumes beim Rind	14
Semiquantitative Bestimmung der Kalziumkonzentration im Harn des Rindes	15
Die Bedeutung der Kalziumionen für die Blutgerinnung	16
Semiquantitative Blut-Kalziumbestimmung beim Rind nach MAYER, RAGGI und RAMBERG (1965)	21
Semiquantitative Blut-Kalziumbestimmung beim Rind nach SANDHOLM, JÖNSSON, PEHRSON und ZEVI (1979)	27

	Seite
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	31
Material und Methode	31
Ergebnisse	35
Ergebnisse von 2 Vorversuchen zur Ermittlung der erforderlichen Menge an Thromboplastinlösung zur Einstellung der gewünschten Reaktionszeit	35
Ergebnisse von Voruntersuchungen über die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwin- digkeit des Testes	37
Ergebnisse einer Voruntersuchung über die Trennschärfe des Blut-Kalziumschnelltestes in Grenzbereichen	37
Ergebnisse des Feldversuchs mit dem Schnelltest zur semiquantitativen Bestimmung des Blut- Kalziumgehaltes an 104 festliegenden Kühen	40
DISKUSSION	54
ZUSAMMENFASSUNG	61
SUMMARY	62
LITERATURVERZEICHNIS	63

EINLEITUNG

Unter den Stoffwechselkrankheiten des Rindes spielen Störungen des Kalziumhaushaltes nach wie vor eine große Rolle. Während die Hypokalzämische Gebärlähmung, wenn sie in "klassischer" Form auftritt, anhand der klinischen Erscheinungen sicher zu diagnostizieren ist, kann in anderen Fällen, d.h. bei weniger typischem Verlauf, lediglich der Verdacht auf Vorliegen einer Hypokalzämie geäußert werden. Ein besonderes diagnostisches Problem wirft das Festliegen post partum mit freiem Sensorium auf, da dieser Lähmungszustand sowohl mit als auch ohne Senkung des Blut-Kalziumspiegels einhergehen kann. Eine Kalziuminfusion bei Vorliegen einer Normokalzämie kann jedoch für das Tier tödlich sein.

Aus diesem Grunde wäre es wünschenswert, wenn der behandelnde Tierarzt die Möglichkeit hätte, in allen fraglichen Fällen vor der Kalziumtherapie zunächst den Blut-Kalziumgehalt zu bestimmen. Die genaue quantitative Ermittlung der Blut-Kalziumkonzentration ist jedoch unter Praxisbedingungen derzeit nur unter nicht unerheblichem Aufwand an Zeit und apparativer Ausstattung bzw. Kosten möglich. Um Fehlbehandlungen zu vermeiden, wäre aber auch schon eine semiquantitative Bestimmung hilfreich, sofern sie hinreichend verlässliche Ergebnisse liefert und einfach und schnell ausführbar ist. Solche Schnellmethoden wurden von MAYER, RAGGI und RAMBERG (1965) sowie von SANDHOLM, JÖNSSON, PEHRSON und ZEVI (1979) beschrieben. Letzgenannter Test wurde bereits in handelsmäßiger Packung von der Firma Orion Diagnostica, Helsinki, angeboten, später jedoch wieder vom Markt zurückgezogen.

Mir wurde daher die Aufgabe erteilt, den letztgenannten Test auf seine Brauchbarkeit für die Anwendung in der Rinderpraxis zu prüfen und erforderlichenfalls zu vereinfachen.

LITERATURÜBERSICHT

Die Bedeutung des Kalziums im Körperstoffwechsel des Säugetiers

Kalzium spielt beim Säugetier eine große Rolle für die Aufrechterhaltung eines geregelten Körperstoffwechsels.

Im Organismus kommt Kalzium in folgender Verteilung vor:

- Knochen und Zähne 99 %,
- extrazelluläre Flüssigkeit 1 % (BRONSCH, 1976).

Für die Kalziumkonzentration im Blutserum des Rindes geben STÖBER und GRÜNDER (1977) eine physiologische Schwankungsbreite von 8 - 12 mg/dl bzw. 2 - 3 mmol/l an.

Für die Umrechnung der in der Diagnostik gebräuchlichen Arbeitswerte gilt:

mg/dl	mmol/l	mg/dl
1,0	0,5	2,0
2,0	1,0	4,0
0,5	0,25	1,0

Im Blutplasma findet sich das Kalzium in folgenden Fraktionen:

als ionisiertes, biologisch wirksames Kalzium zu
50 - 65 % (5,0 - 7,0 mg/dl)

an Eiweiß (hauptsächlich Albumin) gebunden zu
35 - 50 % (3,0 - 4,0 mg/dl)

komplex gebunden an organische Säuren zu
5 - 10 % (0,5 - 1,0 mg/dl).

Die Fraktionen sind unterschiedlich aktiv: biologisch wirksam ist die ionisierte Form, die sehr schnell aus der komplex an Protein gebundenen ersetzt, oder wieder in diese zurückgeführt werden kann. Der Gehalt an ionisiertem Kalzium im Serum und in der Interzellularflüssigkeit wird beim Rind mit ca. 5 mg/dl angegeben (HAPKE und FRIGGE, 1972).

Das Gleichgewicht zwischen freiem und proteingebundenem Kalzium ergibt sich aus dem Massenwirkungsgesetz (FRIMMER, 1969):

$$\frac{[\text{Ca}^{++}]}{(\text{Ca} - \text{Protein})} = K \quad (K = \text{konstant})$$

Die Größe von "K" ist abhängig vom pH-Wert des Blutes.

Bei azidotischer Stoffwechsellaage ist die ionisierte, biologisch wirksame Serum-Kalziumfraktion auf Kosten des eiweißgebundenen Kalziums erhöht, bei Alkalosen ist das Verhältnis umgekehrt.

Die gesamte Kalziummenge aller Fraktionen im Serum eines erwachsenen Rindes von ca. 500 kg Körpergewicht wird mit 1,5 - 2 g und die der Interzellularflüssigkeit mit 6 - 10 g angegeben (MOODIE, 1960).

Kalzium ist ein unentbehrlicher Bestandteil aller Gewebe und Organe und greift als Aktivator zahlreicher Enzymsysteme und Hormone in den Energiestoffwechsel und die Funktion verschiedener Organe ein (BRONSCH, 1976).

So ist Kalzium unter anderem wesentlich beteiligt an:

- Steuerung der Membranpermeabilität
- Regelung der neuromuskulären Erregbarkeit
- Ablauf der Muskelkontraktion
- Herztätigkeit
- Bildung und Abgabe von Azetylcholin
- Blutgerinnung
- Knochen- und Zahnentwicklung
- Milchsynthese

Die Regulation der Plasma-Kalziumkonzentration beim Säugetier

Kalzium wird hauptsächlich im Darm resorbiert und über Galle, Pankreas, intestinale Sekrete und die Nieren ausgeschieden. Die Regulation des Plasma-Kalziumgehaltes geschieht durch ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Mechanismen, die in der Hauptsache durch Parathormon, Calcitonin und die aktiven Metaboliten des Vitamin D gesteuert werden (SIMONSEN, 1980).

Das Vitamin D umfaßt eine Gruppe strukturell verwandter, aber unterschiedlich stark wirksamer Verbindungen, die sich alle von den Sterinen ableiten. Physiologisch bedeutsam sind das Vitamin D₂ (Ergocalciferol) und das Vitamin D₃ (Cholecalciferol), welche unter dem Einfluß von ultravioletten Strahlen (z.B. im Unterhautgewebe) aus dem pflanzlichen Ergosterin bzw. dem bei Tieren vorkommenden 7-Dehydrocholesterin gebildet werden (SCHOLE, ERBERSDOBLER und TIEWS, 1976).

Das Vitamin D₃ wird in der Leber zu 25-Hydroxy-Cholecalciferol umgebaut. In der Niere wird dieses 25-HCC entweder in das 24,25-Dihydroxy-Cholecalciferol (24,25-DHCC) oder, bei erhöhtem Kalziumbedarf bzw. Kalziumverbrauch, vermehrt in die biologisch aktivere Form des 1,25 DHCC umgeformt (CAPEN et al., 1981).

Dieses 1,25 DHCC induziert durch Anlagerung an spezifische Rezeptoren in den Zellen von Darm, Knochen und Niere die Bildung von kalziumbindendem Protein (CaBP), das in Abhängigkeit von der Höhe des Parathormonspiegels den Kalziumionentransport dieser Zellen übernimmt (SIMESSEN, 1980).

Ein Absinken der Plasma-Kalziumkonzentration stimuliert die Zellen der Nebenschilddrüse, vermehrt Parathormon zu produzieren. Dieses Hormon bewirkt einen Anstieg der Kalziumkonzentration im Blut durch Anregung der Osteoklasten und Steigerung der intestinalen Kalziumresorption und der renalen tubulären Kalziumrückresorption (SIMESSEN, 1980). Eine weitere renale Wirkung des Parathormons besteht in Erhöhung der Phosphatausscheidung mit dem Urin und in der Stimulation der Synthese des Enzyms 25-Hydroxy-Cholecalciferol-1-Hydrolase und damit in einer Förderung der Bildung der stoffwechselaktiveren Form des Vitamin D₃ (1,25-DHCC) (BUDECKE, 1977).

Dieses 1,25-DHCC wiederum wirkt, genauso wie das weniger stoffwechselwirksame 25-HCC, der Parathormon-Produktion und -Ausschüttung entgegen (SIMESSEN, 1980).

Das Calcitonin aus den parafollikulären C-Zellen der Schilddrüse wird laufend proportional zur Höhe des Blut-Kalziumgehaltes freigesetzt (SIMESSEN, 1980).

Dieses Hormon bewirkt eine Senkung des Blut-Kalziumspiegels durch Stimulierung der Osteoblastenfunktion mit vermehrter Kalziumphosphatdeponierung im Skelettsystem bei gleichzeitiger Osteoklastenhemmung. Die renale Kalzium- und Phosphatausscheidung wird erhöht (KMENT, 1976).

Sexualhormone, Glucocorticoide, Thyroxin, Wachstumshormon und das Glucagon beeinflussen den Metabolismus der Mineralstoffe und können so auch indirekt auf den Serum-Kalziumspiegel Einfluß nehmen (SIMESSEN, 1980).

Bei ausreichend mit Vitamin D versorgten Tieren bestimmt der Kalziumbedarf den Umfang der Kalziumresorption (ANKE, 1977). Dabei wird das Kalzium besser verwertet, wenn es in einem bestimmten Mengenverhältnis zu Phosphor zugeführt wird (KIRCHGESSNER, 1975). Das optimale Ca:P-Verhältnis im Futter liegt allgemein bei 1,5 - 2 : 1. Durch Sezernierung von Kalzium in den Verdauungstrakt und durch Phosphorausscheidung mit dem Speichel kann das Rind auf das Mengenverhältnis von Kalzium zu Phosphor in der Futterration Einfluß nehmen. Erst ein Ca:P-Verhältnis in der gesamten Futterration von über 4 : 1 wirkt sich beim Rind wegen der dadurch zu stark werdenden Hemmung der intermediären Verwertung negativ auf die Gesamtbilanz von Kalzium und Phosphor im Körper aus (KIRCHGESSNER, 1975).

Physiologische Schwankungen des Blut-Kalziumwertes und die sogenannte "physiologische Hypokalzämie" beim Rind

Der Kalziumgehalt des Rinderblutes schwankt in Abhängigkeit von Tagesrhythmus, Alter, Laktations-, Zyklus- und Graviditätsstadium sowie Fütterungs- und Haltungsbedingungen innerhalb der als physiologisch geltenden Grenzen von 8 - 12 mg/dl (STÖBER, 1978 a).

Die kritischste Phase des Kalziumstoffwechsels beim Rind ist die Zeit um die Geburt. Hier fällt der Serum-Kalziumgehalt oft deutlich ab, und deshalb wird diese Periode auch allgemein als "physiologische Hypokalzämie" bezeichnet (7,0 - 8,5 mg/dl) (STÖBER, 1978 a). Der Magnesiumspiegel bleibt unverändert oder steigt geringfügig an, wogegen der Phosphorgehalt im Blut oftmals deutlich verringert ist (BOSTEDT et al., 1979).

Ätiologie und Pathogenese der Hypokalzämischen Gebärpause

Als ursächliche Faktoren der hypokalzämischen Gebärpause gelten:

- Die einsetzende Milchsekretion läßt plötzlich ein hohes Kalziumdefizit im Serum entstehen. Im Erstgemelk finden sich durchschnittlich 182 mg/dl Kalzium und 175 mg/dl Phosphat. Der Kalziumgehalt der Normalmilch von 1 - 2 g/l ist zwingend genetisch festgelegt (ZEROBIN, 1976).
- Die bei den Rindern mit zunehmendem Alter abnehmende Fähigkeit, das mit der Nahrung zugeführte Kalzium auszunutzen (STÖBER, 1970). Der Resorptionskoeffizient für Kalzium beträgt bei Saugkälbern 97 %, bei halbjährigen Rindern 41 %, bei 1 - 6 Jahre alten Rindern 34 % und bei 10 Jahre alten Rindern nur noch ca. 22 % (BRONSCH, 1976).

- Die bei Kühen im Zusammenhang mit dem Kalben auftretende Reduzierung der Magen-Darmtätigkeit, die sich in verminderter Freßlust, herabgesetzter Pansenmotorik und eingedicktem Kot äußert. Dadurch wird weniger Kalzium in den Darm übergeführt, von wo die Resorption erfolgt (STÖBER, 1978 a).
- Die mit steigendem Alter sich verringernde Menge des schnell abbaufähigen Kalziums aus dem Skelett. Ältere Tiere sind daher nicht mehr in der Lage, den durch die plötzlich einsetzende Milchleistung erhöhten Kalziumbedarf durch entsprechend schnellen Abbau von Knochenkalzium auszugleichen (BRONSCH, 1976).
- Der Anstieg des Östrogenspiegels, verbunden mit Appetitminderung und Senkung des Blut-Kalziumspiegels (SACHS, 1974).
- Falsche Zusammensetzung der Futtermischung während der Trockenstehtzeit. Bei chronischem Phosphordefizit und gleichzeitigem Kalziumüberangebot in der täglichen Ration stellt sich eine geringere Aktivität der Epithelkörperchen ein, wodurch nach der Kalbung ungenügende Mengen an Parathormon ausgeschüttet werden (STÖBER, 1978 a).

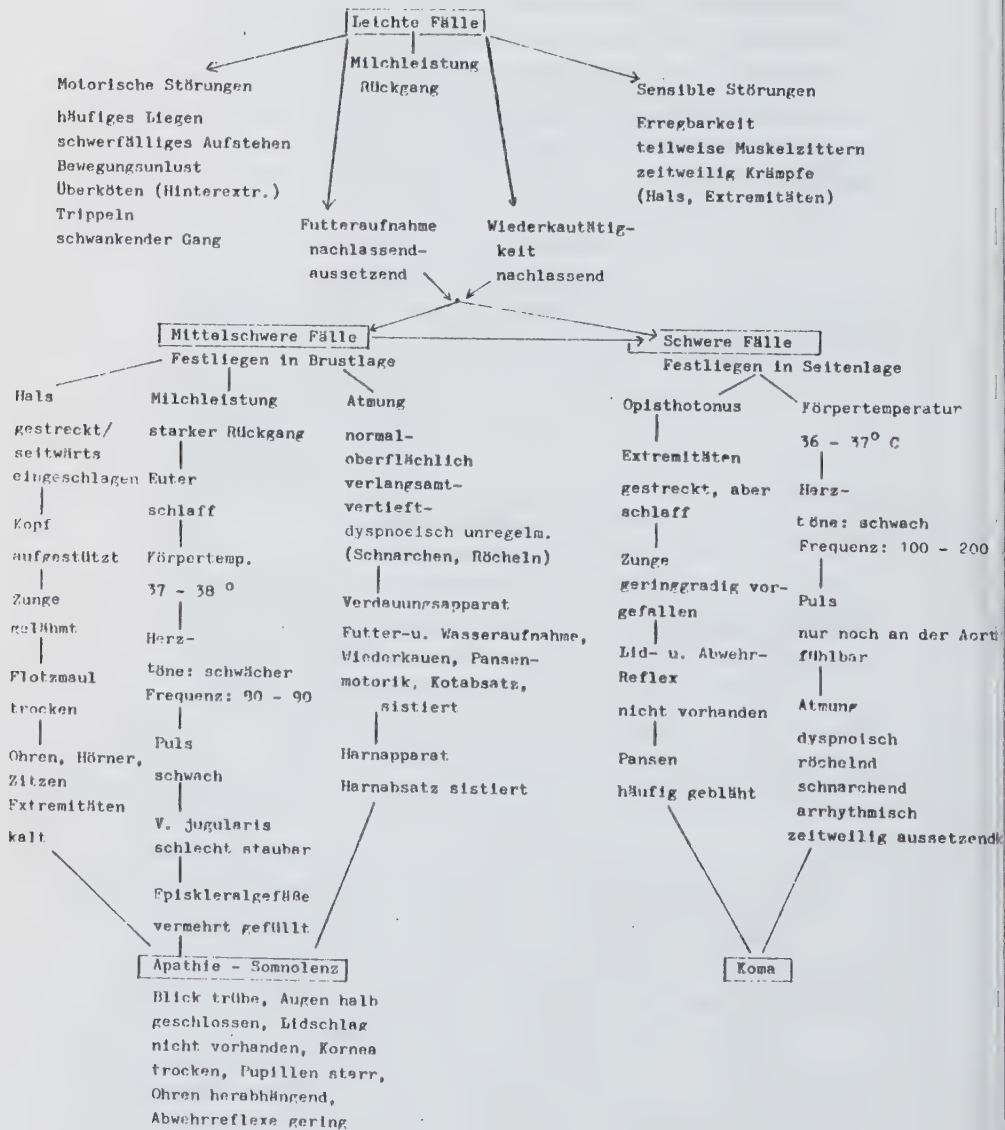
Erscheinungsbild der Hypokalzämischen Gebärlähmung des Rindes

Durch Kalziummangel verursachte Übererregbarkeit der Nerven mit dadurch verursachten tetanischen Krämpfen der Skelettmuskulatur wird nur beim Menschen und monogastrischen Tieren als Leitsymptom beobachtet. Beim Rind treten dagegen vergleichbare sensible Störungen mit erhöhter Erregbarkeit, teilweisem Muskelzittern und zeitweisen Krämpfen vornehmlich der Hals- und Extremitätenmuskulatur allenfalls nur zu Beginn der Hypokalzämischen Gebärlähmung auf.

Bei mittelschweren bis schweren Fällen sind jedoch lähmungsartige Erscheinungen, die bis zum Festliegen führen können, und Trübungen des Sensoriums bis zum Koma zu beobachten (STÖBER, 1978 a).

Das klinische Erscheinungsbild der Gebärpause hat MÜLLING (1974) in folgender Übersicht zusammengefaßt:

Übersicht 1: Schematische Darstellung der Symptomatologie der Hypokalzämischen Gebärlähmung des Rindes nach MULLING (1974)



"Festliegen im engeren Sinne", d.h. im zeitlichen
Zusammenhang mit dem Kalbevorgang beim Rind

STÖBER und DIRKSEN (1980) unterscheiden beim "Festliegen des Rindes im engeren Sinne" zwischen einer Hypokalzämischen Gebärlähmung mit komplikationsloser Heilung und einem Festliegen, bedingt durch Komplikationen am Bewegungsapparat. Im ersten Fall, dessen Ursache eine Störung des Kalziumstoffwechsels ist, ist das Sensorium nach einer Kalziumbehandlung frei und das Tier kann aufstehen. Im zweiten Fall erfolgt sekundär eine Beschädigung infolge hypokalzämiebedingten Ausgleitens, Niederbrechens oder Stürzens, sowie durch Läsionen infolge langen ungepolsterten Liegens.

Die möglichen Folgen sind: Muskelzerreißen (M. gastrocnemius, Mm. adductores), Gelenksluxationen (Hüft-, Knie- oder Sprunggelenk), Sehnenruptur (Achillessehne, M. fibularis tertius), Knochenfraktur (Becken, Oberschenkelbein, Schienbein), Nervenlähmung (N. radialis, N. fibularis), Dekubitalnekrosen und -phlegmonen von Haut und Unterhaut.

Neben der hypokalzämischen Gebärparese werden noch die differentialdiagnostisch wichtigen schwergeburtsbedingten Bewegungsstörungen und anderweitige peripartale Erkrankungen dem Oberbegriff "Festliegen im engeren Sinne" zugeordnet (STÖBER und DIRKSEN, 1980). Hierbei handelt es sich um Bewegungsstörungen durch Überbelastung oder Verletzungen der Wirbelsäule im Lenden-Kreuz-Bereich (Querschnittlähmung, Contusio caudae equinae, zentrale Lähmung des N. tibialis), Verletzungen des Beckenringes (Kreuz-Darmbein-Lösung, Beckenbruch, Symphysenlösung) und Quetschungen der, zwischen Beckenring und weichem Geburtsweg verlaufenden Nerven (N. ischiadicus/ N. tibialis, N. obturatorius).

Zu den anderweitigen peripartalen Erkrankungen, bei denen das Sensorium meist in zunehmendem Maße (unter Umständen sogar bis zum Koma) beeinträchtigt ist, zählen STÜBER und DIRKSEN (1980) den Blutverlust infolge Ruptur der A. uterina oder der A. vaginalis, die Quetschung oder Zerreißung des, zwischen Kalb und knöchernem Geburtsweg eingeklemmten Dünndarmes, die Mastitis paralytica und das "puerperale Leberkoma", das als Folge einer anderen verschleppten Krankheit (z.B. Azetonämie, Endometritis, Mastitis, Pyämie) meist erst einige Zeit post partum in Erscheinung tritt.

"Festliegen im weiteren Sinne", d.h. außerhalb des Abkalbezeitraumes beim Rind

Diesem Oberbegriff werden Erkrankungen zugeordnet, die durch organisch-traumatische, infektiöse, parasitäre, metabolische oder toxische Ursachen ebenfalls zum "Festliegen" führen (STÜBER und DIRKSEN, 1980).

Gerade bei festliegenden Tieren ohne typische Gebärparese-Symptomatik ist - besonders um Fehlbehandlungen zu vermeiden - eine schnell erhältliche Information über den Kalzium-Blutspiegel als besonders wertvoll anzusehen.

Semiquantitative Bestimmung der Kalziumkonzentration im Harn des Rindes

Der "Sulkowitch-Test": Es handelt sich um einen Kalzium-Schnelltest, der von BARNEY und SULKOWITCH (1937) beschrieben wurde und zur schnellen Bestimmung des Kalziumgehaltes im Urin angewandt wird.

Dabei werden 5 ml Harn mit 2 ml "Sulkowitch-Lösung" (Acid.oxal. 2,5; Ammon.oxal. 2,5; Acid.acet.glac. 5,0; Aqua dest. ad 150,0) im Reagenzglas gemischt. Die nach einer Minute durch ausfallendes Ca-Oxalat entstandene Trübung wird je nach Stärke mit 0/1/2/3/4 bezeichnet, und zwar deutliche Opaleszenz mit 1, eine starke Trübung mit 3, eine sehr starke mit 4. Werte von 1 - 2 sind dabei normal.

Verschiedene Autoren haben geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem Ergebnis des Sulkowitch-Testes und dem zugehörigen Blut-Kalziumwert beim Rind besteht.

In Tabelle 1, angefertigt von HARRY (1973), sind die Ergebnisse verschiedener Autoren bezüglich dieser Fragestellung zusammengefaßt.

Tabelle 1: Schrifttumsangaben zur Brauchbarkeit des Sulkowitch-Testes zur Beurteilung des Serum-Kalziumgehaltes:

Autor	Jahr	Schätzung des Serum-Ca-Gehaltes möglich
Albright	1939	ja
Detweiler und Martin	1949	ja
Roberts et al.	1951	nein
Geiser	1955	nein
Hallgren	1955	nein
Detweiler	1956	nein
Spörri und Volkart	1957	nein
Volkart	1957	nein
Gorisek	1958	nein
Glawischnig und Sagmeister	1963	nein
Ahrens	1966	ja

Die Mehrzahl der Autoren verneint demnach die Rückschlußmöglichkeit auf den Serum-Kalziumgehalt.

HARRY (1973) gab als Begründung auch seines eigenen negativen Untersuchungsergebnisses vor allem die starke Streuung der Trübungsreaktionen beim Sulkowitch-Test und erhebliche Tagesschwankungen von bis zu 8,1 mg/dl in der Harn-Kalziumkonzentration beim Rind an.

Die Bedeutung der Kalziumionen für die Blutgerinnung

Alle Testverfahren für eine semiquantitative Schnellermittlung des Blut-Kalziumgehaltes basieren auf der Beteiligung des Elementes Kalzium Ca^{++} am Blutgerinnungsvorgang. Daher seien im Folgenden die Vorgänge bei der Blutgerinnung und ihre Beziehung zu Ca^{++} kurz dargestellt.

Nach EDER (1976) läßt sich der Ablauf der Blutgerinnung wie folgt darstellen:

Beteiligt am Gerinnungsgeschehen sind sog. "plasmatische Faktoren" (im Blutplasma vorkommende Proteine oder Enzyme) und sog. "zelluläre Faktoren" (Phospholipide, die aus den Thrombozyten oder anderen Zellen stammen und wichtige Enzymreaktionen katalysieren).

Die Einleitung der Gerinnung kann auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen. Sie kann erstens von einer Gewebsverletzung ausgehen und über das "exogene System" ablaufen (= extravasales, äußeres oder "extrinsic system"). Die zweite Möglichkeit stellt das sog. "endogene System" dar (= intravasales, inneres oder "intrinsic system"). Beide Systeme haben die Bildung eines Faktor-X-Aktivator-Komplexes als Ziel.

Das auslösende Moment im exogenen System ist eine Gewebsverletzung, wobei verschiedene gerinnungsaktive Substanzen, die unter dem Begriff Thromboplastin

(Thrombokinas, Faktor III) zusammengefaßt werden, aus den alterierten Zellen frei werden.

Das endogene Reaktionssystem wird nach dem Kontakt des Blutes mit einer veränderten Oberfläche, wie sie z.B. bei Defekten oder Alterationen der Gefäßintima entsteht, in Gang gesetzt. Dabei wird der Mageman-Faktor (XII) aktiviert, der eine Reihe von Folgeaktionen auslöst, die schließlich den Faktor-X-Aktivator-komplex bilden.

Ab dem aktivierten Faktor Xa verlaufen nun exo- und endogenes System nach einem gemeinsamen Reaktionsmuster. Xa bewirkt zusammen mit Ca^{++} , Phospholipiden und dem Plasmafaktor V die Umwandlung von Prothrombin (Faktor II) zu Thrombin (IIa). Hilfsfaktoren hierfür nennt man Prothrombinaktivatoren.

Prothrombin ist ein Produkt der Leber, das sich normalerweise im Plasma befindet, Thrombin ist ein Spaltprodukt davon. Thrombin bewirkt in seiner Eigenschaft als proteolytisches Enzym die Hauptreaktion des Gerinnungsvorganges, nämlich die Umwandlung des Fibrinogens (Faktor I) zu Fibrin. Dabei werden vom Fibrinmolekül zwei Peptide abgespalten, es entstehen Fibrinmonomere, die sich zu Doppelsträngen polymerisieren und damit Fibrinfibrillen bilden.

Dieses Fibrin ist an sich noch löslich und wird erst nach Einwirkung des durch Thrombin und Kalzium aktivierten Faktor VIII (FSF) und durch weitere nicht-kovalente Ca^{++} -Bindung zum kovalent vernetzten Fibrin.

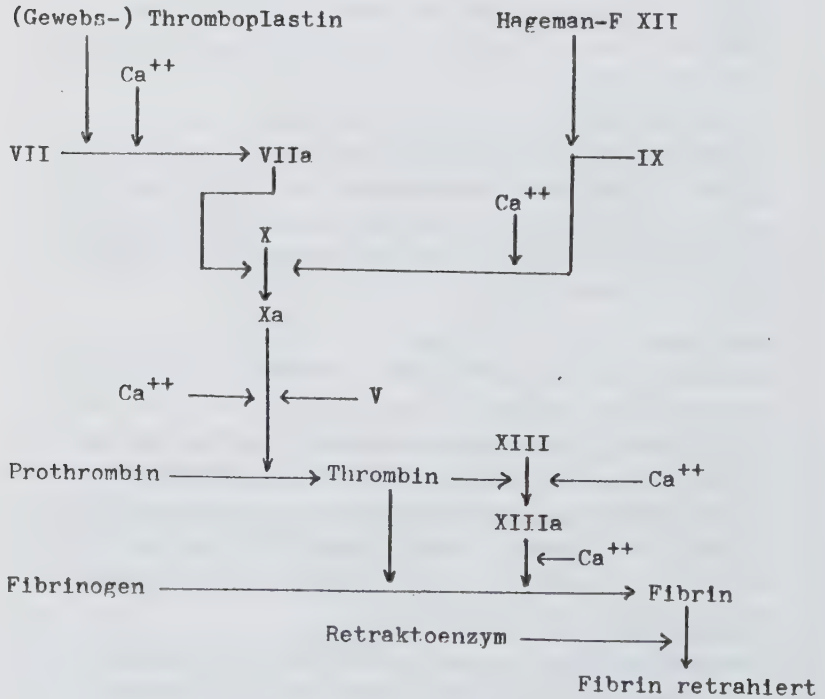
Das Blutgerinnsel ist entstanden. In diesem läuft später durch den Einfluß des Thrombozytenfaktors "Retraktoenzym" noch ein Schrumpfungsprozess der Fibrinfibrillen ab.

An welchen Stellen Kalziumionen in den Prozess der Blutgerinnung eingreifen, soll mit folgendem Schema noch einmal verdeutlicht werden:

Abb. 1: Schematische Darstellung der Blutgerinnung:

Exogenes System
Gewebsverletzung

Endogenes System
Fremdoberflächenkontakt
des Blutes



Während ein Abfall des Blutkalziumwertes unter 7 mg/dl schon genügt, um die Muskelkontraktilität negativ zu beeinflussen (MÜLLING, 1974), so ermöglicht selbst eine wesentlich niedrigere Kalziumionenkonzentration im Blut noch den Ablauf der Blutgerinnung in vitro. (EDER, 1976).

Der zeitliche Ablauf des Blutgerinnungsvorgangs ist, vor allem in vitro, in sehr hohem Maße von äußeren Einflüssen abhängig (WIRTH, 1950).

Wichtig ist, zu definieren, ob man mit dem Ausdruck "Gerinnungszeit" die Zeit bis zum Gerinnungsbeginn oder bis zur vollendeten Gerinnung meint. Aus diesem Grunde differieren die Angaben über die Gerinnungszeit beim Rind recht stark.

So werden für die Gerinnungszeit von Vollblut (im Glasgefäß) bei Zimmertemperatur die folgenden Zeiten angegeben:

- MAREK (1956) 8 - 10 min
- WIRTH (1950) 17 min.

Im Bürkerschen Apparat läuft die Blutgerinnung von Vollblut bei 25° C laut WIRTH (1950) in 6 - 6 min 45 sec ab.

Der Normalwert bei der Bestimmungsmethode der Gerinnungszeit nach LEE-WHITE wird bei Rinderblut mit 4 - 15 min angegeben (COLES, 1980).

Verlängerte Gerinnungszeiten finden sich bei verschiedenen Koagulopathien der Haustiere (COLES, 1980).

Nach COLES (1980) zählen hierzu:

- Fibrinogenmangel (Faktor I)
- Hämophilie A (Faktor VIII-Mangel)
- Hämophilie B (Faktor IV-Mangel)
- Thrombozytopenie
- Thrombozytopathie.

Eine Thrombozytopenie stellt sich häufig auch sekundär in Verbindung mit bakteriellen und viralen Erkrankungen ein, kann jedoch ebenso die Folge von Autoimmunerkrankungen sein oder nur zeitlich begrenzt nach Hämorrhagien und Traumen auftreten (COLES, 1980).

Eine erhöhte Blutungsbereitschaft durch Thrombozytopenie in Gefolge einer Hemmung der Megakaryozytopoese wird z.B. bei lymphatischer Jungtierleukose beobachtet (STÖBER, 1978 c).

Ein Vitamin K Mangel, wie er z.B. durch Störungen der Darmflora, der Gallensekretion und der damit verminderten Resorption von Vitamin K entstehen kann, äußert sich genauso in einer Verminderung der Syntheseleistung von Gerinnungsfaktoren (Prothrombin, Faktor VII, IX und X) in der Leber wie bestimmte Erkrankungen der Leber selbst (BEGEMANN, 1982).

Bei septischen Krankheitsbildern (vor allem durch Koli-bakterien, Staphylokokken, Pneumokokken und Meningokokken), bei Schockzuständen kardiogener, hämorrhagischer und traumatischer Genese sowie nach Verbrennungen oder anaphylaktischer Reaktionen kann eine Verlängerung der Gerinnungszeit durch einen pathologischen Fibrinogenverbrauch (Verbrauchskoagulopathie) sowie durch eine gesteigerte Fibrinogeno- bzw. Hyperfibrinolyse beobachtet werden (STRAUB, 1979).

Zu den Rinderkrankheiten, die durch toxische Schädigungen des Knochenmarks Störungen der Blutgerinnungsfähigkeit mit sich bringen, gehören Vergiftungen durch Furazolidon, Adlerfarn, Kumarin, Indandione, trichloräthylenextrahiertes Sojaschrot, Stein- oder Honigklee, Mykotoxikosen und das Strahlensyndrom (STÖBER, 1978 b).

Semiquantitative Blut-Kalziumbestimmung beim Rind
nach MAYER, RAGGI und RAMBERG (1965)

Der erste Schnelltest zur Kalziumbestimmung im Blut, der sich das Blutgerinnungsphänomen für den Kalziumnachweis zunutze machte, wurde 1965 von MAYER, RAGGI und RAMBERG entwickelt. Er stellt sozusagen die Grundlage für eine Reihe von modifizierten Testverfahren mit Vollblut dar.

Er wird von MAYER et al. (1965) folgendermaßen beschrieben:

Die zur Verhinderung der Blutgerinnung benötigte Menge von Natriumsalz des Äthylendiamintetraacetat (EDTA) wird herangezogen, um die Kalziummenge des Blutes abzuschätzen. Es verbinden sich 0,01 ml der wässrigen Lösung von EDTA in einer bestimmten Konzentration (5 mEq./l) mit 1 Mikrogramm Kalzium.

Für die Durchführung eines Testes werden 6 Blutröhrchen in der Größe 75 mm x 12 mm $\varnothing$ benötigt. In einer Tabelle werden die Mengen EDTA angegeben, die zur komplexen Bindung des Kalziums bei verschiedenen Kalziumkonzentrationen im Blut erforderlich sind. Zur Berechnung der erforderlichen EDTA-Menge wird ein mittlerer Hämatokrit von 33,3 % angenommen.

Für die Abfüllung der errechneten Menge an EDTA-Lösung in die Blutröhrchen wird eine exakte Mikrobürette benötigt. Jeder Test erfordert eine Serie von 6 Röhrchen, von denen 5 (entsprechend ihres zu erwartenden Serum-Kalziumgehaltes) mit der entsprechenden Menge Na-EDTA-Lösung (siehe Tabelle) in einer Konzentration von 5 mEq./l beschickt werden. Das 6. Blutröhrchen - ohne EDTA - dient als Vergleich zur Feststellung der Blutgerinnungsfähigkeit.

Die Röhrchen werden wie folgt bezeichnet:

Röhrchen	ohne	EDTA-Lösung	0
"	mit 0,40 ml	"	6 = 6 mg/dl
"	mit 0,47 ml	"	7 = 7 mg/dl
"	mit 0,53 ml	"	8 = 8 mg/dl
"	mit 0,60 ml	"	9 = 9 mg/dl
"	mit 0,67 ml	"	10 = 10 mg/dl

Nach Einbringen der EDTA-Lösung wird das Wasser durch Erhitzen auf 105° C verdampft, und alle 6 Röhrchen jeder Serie werden mit einem durchstechbaren Gummistopfen verschlossen. Vor Durchführung der Serumkalziumbestimmung mit diesem Test wird eine dünne Kanüle in den Gummistopfen eingestochen, um den Druckausgleich beim Einspritzen des Blutes in die Blutröhrchen zu gewährleisten. Die Blutprobe wird mit einer Plastikspritze (5 ml) unter Verwendung feiner Kanülen entnommen und jeweils exakt 1,0 ml Blut in die Röhrchen 6 bis 10 abgefüllt. Die Röhrchenserie wird anschließend in ein Wasserbad von 37° C gestellt.

Die Beurteilung des Testes ist nach etwa 15 Minuten möglich. Bei Raumtemperatur dauert es laut Angabe von MAYER et al. (1965) bis zu zwei Stunden, bis das Ergebnis ablesbar ist.

Eine Blutprobe gilt als geronnen, wenn sich das Blut bei leichtem Schwenken des umgekehrten Röhrchens nicht vom Röhrchenboden löst.

Als mögliche Ursachen für ein falsches Testergebnis geben MAYER et al. (1965) an:

- Ungenaue Abfüllung der Blutmenge (1 ml) in die einzelnen Röhrchen.
- Starke Abweichungen des tatsächlichen Hämatokritwertes von 33,3 %.

Der Kalziumgehalt der Blutprobe wird wie folgt abgelesen:

Gerinnung					Serum-Kalziumgehalt
Gerinnung nur in Röhrchen 0					< 6 mg/dl
"	"	"	"	0,6	> 6 mg/dl u. < 7 mg/dl
"	"	"	"	0,6,7	> 7 mg/dl u. < 8 mg/dl
"	"	"	"	0,6,7,8	> 8 mg/dl u. < 9 mg/dl
"	"	"	"	0,6,7,8,9	> 9 mg/dl u. < 10 mg/dl
"	"	"	"	0,6,7,8,9,10	> 10 mg/dl

Das in den Röhrchen eventuell noch im "Überschuß" befindliche Kalzium läßt einen Blutgerinnungsvorgang gemäß dem endogenen Blutgerinnungssystem ablaufen.

Durch die Testreihe mit verschiedenen hohen EDTA-Mengen läßt sich der Blut-Kalziumwert in einzelnen Stufen gut abschätzen. Die Testtemperatur wurde auf 37° C festgelegt, um im gewählten Zeitraum von 15 Minuten vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

HARRY (1973) kam nach der Durchführung des Tests in der oben beschriebenen Weise zu folgendem Ergebnis:

Tab. 2: Vergleich der mit dem EDTA-Test ermittelten und der atomabsorptionsspektrometrisch festgestellten Serum-Kalziumgehalte bei 144 klinisch gesunden und 36 festliegenden Kühen

	klinisch gesunde Kühe		festliegende Kühe
	Röhrchen geschwenkt	Röhrchen unbewegt	
Übereinstimmung	2 (12,5%)	71 (55,5 %)	13 (36,1 %)
Abweichung	14 (87,5%)	57 (44,5 %)	23 (63,9 %)

Tabelle 3: Beurteilung des Kalziumgehaltes im Blut von 180 Rindern mit dem semiquantitativen EDTA-Test in Bezug zu den Ergebnissen der quantitativen, atomabsorptionsspektrometrischen Kontrolluntersuchungen gemäß den Untersuchungsergebnissen von HARRY (1973):

Ergebnis des semiquantitativen EDTA-Tests	Ca normal und ↑	Ergebnis der atomabsorptionsspektrometrischen Analyse		
		Ca normal und ↑	Ca ↓	
		81	18	99
	Ca ↓	76	5	81
		157	23	180

Von 23 hypokalzämischen Tieren klassifizierte der Test 5 richtig. Demnach hat der Test eine "Empfindlichkeit" von 22 %.

Von 157 nicht hypokalzämischen Tieren wurden 81 vom EDTA-Test richtig ausgewiesen. Die "Spezifität" des Testes liegt bei 52 %.

Die "Richtigkeit" des Testes ist 48 %, da er 86 von 180 Probanden insgesamt richtig klassifizierte. Von 81 Tieren, die der EDTA-Test als hypokalzämisch auswies, hatten nur 5 tatsächlich hypokalzämische Blutwerte. Bei diesem, "Prädiktiver Wert des positiven Tests" (VECCHIO, 1966), genannten Kriterium erreichte der Test nur einen Wert von 6 % (pvT+).

Der "Prädiktive Wert des negativen Tests" (pvT-) erreichte einen Wert von 82 %, da von 99 als nicht hypokalzämisch eingestuften Tieren 81 tatsächlich nicht hypokalzämisch waren.

Um die Aussagekraft des "Prädiktiven Wertes" (pvT+) abschätzen zu können, ist es wichtig, die sogenannte "Prävalenz" der an Hypokalzämie erkrankten Tiere in der untersuchten Gruppe zu kennen. Die "Prävalenz" beträgt in diesem Fall 13 %. Dieser Wert beschreibt, daß 23 von 180 untersuchten Tieren hypokalzämisch waren.

Die meisten Falschwerte entstanden nach intensivem Schwenken der Röhrchen zu Testbeginn. Viele Proben ergaben einen zu niedrigen Wert, da das im Röhrchen verbliebene Restkalzium in den vorgegebenen 15 Minuten noch keine Blutgerinnung bewirken konnte. HARRY (1973) hält eine mangelhafte Verteilung der EDTA-Kristalle für eine weitere mögliche Fehlerquelle.

Da gerade die erniedrigten Serum-Kalziumwerte diagnostisch wichtig sind, kam HARRY (1973) zu dem Schluß, der Mayer-EDTA-Test habe keinen praktisch-diagnostischen Wert.

MARTIG et al. (1974) führten den Mayer-EDTA-Test ebenfalls in vorgegebener Form bei 50 Kühen durch und erhielten die in Tabelle 4 zusammengefassten Ergebnisse:

Tabelle 4: Vergleich der mit dem semiquantitativen EDTA-Test festgestellten Kalziumgehalte im Blut mit den Ergebnissen der quantitativen atomabsorptionsspektrometrischen Kontrolluntersuchungen:

Ergebnis des semi- quantita- tiven EDTA- Tests	Ca normal und ↑ Ca ↓	Ergebnis der atomabsorptions- spektrometrischen Analyse		
		Ca normal und ↑	Ca ↓	
		30	1	
		0	19	19
		30	20	50

- Testempfindlichkeit: 95 %
- Testspezifität: 100 %
- Testrichtigkeit: 98 %
 - pvT + 100 %
 - pvT - 97 %
- Prävalenz: 40 %

Aufgrund der Testrichtigkeit von 98 % stuften die Autoren den Mayer-EDTA-Test als brauchbaren semi-quantitativen Test ein. Als mögliche Fehlerquellen bei dieser Bestimmungsmethode geben sie an:

- Abweichung des Hämatokritwertes von 33,3 %
- Überstürzte Blutgerinnung
- Pipettierfehler beim Abfüllen der Röhrchen 6 bis 10.

Dieselben möglichen Fehlerquellen bei seinen eigenen Versuchen mit dem Mayer-Test gab auch REITZ (1978) an. Er wählte die Versuchsbedingungen so einfach und praxisnahe wie möglich, entnahm 244 Blutproben mittels einer Recordspritze mit Recordkanülen und schwenkte die Probe zur besseren Lösung des EDTA am Anfang des Versuchs leicht. Als Versuchstemperatur wählte er die herrschende Umwelttemperatur und führte die Beurteilung der Proben dementsprechend erst nach 1 - 2 Stunden durch. In dieser Zeit wurden die Proben innerhalb von 1/2 - 1 Stunde im Auto zu seinem Labor überbracht und jeweils eine flammenphotometrische Gegenprobe gemacht. Von den 244 Proben konnten 25 nicht ausgewertet werden.

Tabelle 5: Vergleich von 219 mit dem Mayer-EDTA-Test ermittelten Kalziumwerten mit den flammenphotometrisch festgestellten Serum-Kalziumwerten gemäß den Untersuchungsergebnissen von REITZ (1978):

Ergebnis des semi- quantita- tiven EDTA- Tests		Ergebnis der atomabsorptions- spektrometrischen Analyse		
		Ca über 7 mg/dl	Ca unter 7 mg/dl	
	Ca über 7 mg/dl	79	18	97
	Ca unter 7 mg/dl	47	75	122
		126	93	219

- Testempfindlichkeit: 81 %
- Testspezifität: 63 %
- Testrichtigkeit: 70 %
 - pVT + 61 %
 - pVT - 81 %
- Prävalenz: 42 %

REITZ (1978) spricht vor allem aufgrund der Testrichtigkeit des EDTA-Tests von nur 70 % von einer unzureichenden Zuverlässigkeit dieses semiquantitativen Schnelltests.

Semiquantitative Blut-Kalziumbestimmung beim Rind nach SANDHOLM, JÖNSSON, PEHRSON und ZEWI (1979)

SANDHOLM et al. (1979) beschrieben einen modifizierten EDTA-Test bei dem das Blutkalzium durch ein Überangebot von K_2 -EDTA komplex abgebunden wird und der EDTA-Überschuß dann mit Ca^{++} und Thromboplastin als Reaktionsbeschleuniger "rücktitriert" wird*. Es wird hierbei eine künstliche Aktivierung des sehr schnell ablaufenden exogenen Blutgerinnungsweges erzielt. Damit soll der Test innerhalb eines angemessenen Zeitraums (5 Minuten) bis zum Endpunkt der Gerinnung geführt werden, um so Unsicherheitsquellen und Fehler in der Testbeurteilung zu reduzieren.

Vorbereitungen zum Test:

- Thromboplastinherstellung:

Etwa 450 g Rinderhirn ohne Meningen werden eiskühlt und dann unter Zugabe von 10 g gestoßenem Eis in einem Mixer 2 Minuten homogenisiert. Darauf folgt eine dreimalige Auswaschung mit 500 ml Azeton mit nachfolgendem Trennvorgang durch Zentrifugieren. Das Präzipitat wird dann getrocknet. 1 g davon wird anschließend in 100 ml 0,9 % NaCl verbracht und 1 Minute bei 4° C homogenisiert.

* Ca-Test, Fa. Orion Diagnostica, Helsinki
zur Zeit nicht im Handel

Von dieser Suspension wiederum verwenden SANDHOLM et al. (1979) 0,1 ml auf 1 ml Blut, um die Reaktion zu beschleunigen.

- Reagenzröhrchen "1":

In ein Kunststoffröhrchen mit 11 mm Durchmesser und einer Markierung bei 10 ml werden jeweils 1 ml Antikoagulationslösung (10,1 mg K_2 -EDTA = 25,0 μ Mol) verbracht und anschließend eingetrocknet.

- Reaktionsampullen "2":

- In diese kommen jeweils 1 ml Thromboplastin-suspension und 11,7 μ Mol $CaCl_2$.
- Der Inhalt wird gefriergetrocknet und unter Stickstoff verschlossen.

Ausführung:

1. Das Reagenzröhrchen "1" wird mit Nativblut bis zur Markierung gefüllt. Das Röhrchen wird 20mal gekippt, um den Inhalt gut zu durchmischen (nicht schütteln). Dabei wird das EDTA in Röhrchen 1 das Kalzium des Blutes binden und eine Blutgerinnung verhindern.
2. Die Reaktionsampulle "2" wird geöffnet, und etwa 10 Tropfen destilliertes Wasser aus dem Plastik-tropfer werden zugefügt. Durch leichtes Schütteln wird das Pulver im Fläschchen gelöst.
3. Der Inhalt des Reagenzröhrchens "1" wird zusammen mit dem der Ampulle "2" in ein weiteres Reagenz-glas überführt, dieses dann verschlossen und der Inhalt durch 20maliges Kippen vermischt. Dann das Fläschchen stehen lassen. Jetzt wird das Kalzium das Überschüssige EDTA zurücktitrieren. Bleiben daraufhin freie Ca-Ionen in der Probe, werden diese mit Hilfe des Thromboplastins die Blutgerinnung einleiten. Wurden dagegen alle Kalzium-Ionen mit EDTA gebunden, kann die Blutgerinnung nicht ablaufen. Die Reaktionszeit beträgt 5 Minuten.

Der Test wird bei Zimmertemperatur ausgeführt, niedrigere Temperaturen beeinflussen den Reaktionsablauf negativ.

Der Test ist auf den Grenzwert von 2,0 mMol Kalzium pro 1 Serum ausgelegt (= 8 mg/dl), da dieser als unterste Grenze für den physiologischen Blut-Kalziumwert von Kühen angesehen wird (SANDHOLM et al., 1979).

Auswertung:

Die Ablesung erfolgt nach 5 Minuten

- Probe koaguliert:

Der Kalziumgehalt der Probe liegt über dem gewählten Grenzwert von 8 mg/dl.

- Probe nicht koaguliert:

Der Kalziumgehalt der Probe liegt unter 8 mg/dl = Hypokalzämie.

- Probe an der Grenze zur Koagulation:

(Schlieren und kleine Koagula werden sichtbar.)

Der Kalziumgehalt der Probe liegt sehr nahe am Grenzwert.

Von allen Probanden wurden parallel Blutproben mittels eines Atomabsorptionsspektrophotometers auf ihren Kalzium- und Magnesiumgehalt untersucht und zudem der Hämatokritwert ermittelt.

Tabelle 6: Vergleich der Ergebnisse von 158 mit dem EDTA-Test nach SANDHOLM et al. (1979) durchgeführten semiquantitativen Kalziumbestimmungen mit denen der quantitativen atomabsorptionsspektrometrischen Untersuchung

		Ergebnis der atomabsorptionsspektrometrischen Analyse		
		Ca über dem untersuchten Grenzwert	Ca unter dem untersuchten Grenzwert	
Ergebnis des semiquantitativen EDTA-Tests	geronnen	58	11	69
	nicht geronnen	4	85	89
		62	96	158

- Testempfindlichkeit:	89 %
- Testspezifität:	94 %
- Testrichtigkeit:	91 %
- pvT +	96 %
- pvT -	84 %
- Prävalenz:	56 %

Als mögliche Ursachen für ein falsches Testresultat werden angegeben:

- Pipettierfehler,
- Interpretationsunterschiede bei minderkoagulierenden Proben.

Ein möglicher Einfluß auf die Reaktion zwischen Ca und K_2 -EDTA durch Mg oder andere Blutmineralien als weitere Fehlerquelle konnte nicht nachgewiesen werden. Dies, obwohl z.T. stark variierende Mg-Serumwerte festgestellt wurden (0,14 - 1,38 mMol/l).

SANDHOLM et al. (1979) kommen zu dem Schluß, daß ihr semiquantitativer Kalzium-Schnelltest bei Testblut mit einem Hämatokritwert um 33,5 % ausreichend genau und aussagekräftig ist. Sie empfehlen daher den Einsatz eines, auf einem Testwert von 2,0 mMol Kalzium im Serum (= 8 mg/dl) festgelegten Schnelltests für die Diagnoseabsicherung von Erkrankungen des Rindes, die mit einer Hypokalzämie einhergehen. Besonders weisen sie in diesem Zusammenhang auf die Erscheinungen des rezidivierenden Festliegens p.p. hin.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Material und Methodik

Versuchstiere: Im Zeitraum vom 01.07.1982 bis 15.10.1982 wurden in einer Landpraxis in Oberbayern* 104 Blutproben von post partum festliegenden Rindern mit dem Test zur semiquantitativen Ermittlung des Blut-Kalziumgehaltes untersucht.

Nach Aufnahme des Vorberichtes wurden alle Tiere klinisch untersucht, eingeschlossen Harnprobenentnahme und -untersuchung mittels Teststreifen**. Im Rahmen der Allgemeinuntersuchung wurde besonders darauf geachtet, ob das Allgemeinbefinden gestört und/oder das Sensorium des Patienten beeinträchtigt war. Alle klinischen Befunde wurden auf Formblättern festgehalten.

Im Anschluß an Befunderhebung und Diagnoseführung wurde aus der gestauten V. jugularis Blut entnommen und der zu Überprüfende semiquantitative Schnelltest durchgeführt.

Diese, im folgenden beschriebene Methode zur semiquantitativen Ermittlung des Blut-Kalziumgehaltes stellt insofern eine Modifikation der von MAYER et al. (1965) und SANDHOLM et al. (1979) beschriebenen semiquantitativen Bestimmungsmethoden von Kalzium im Blutserum dar, als bei der Entwicklung vor allem der Versuch unternommen wurde, Einfachheit und Aussagekraft des Testverfahrens zu optimieren und die Fehlerquellen gleichzeitig so gering wie möglich zu halten.

* Praxis Dr.med.vet. H. Linhart, Grafing b. München

** Combur 8-Teststreifen der Fa. Boehringer-Mannheim

Das Funktionsprinzip des Schnelltestes nach MAYER et al. (1965) ist weniger aufwendig und der Testansatz daher auch für einen Landpraktiker einfacher zu erstellen. Der Testvorgang dagegen ist bei der von SANDHOLM et al. (1979) beschriebenen Methode unkomplizierter, da nur ein Reagenzglas benötigt wird. Außerdem lassen sich bei 10 ml Blutmenge Pipettierfehler leichter vermeiden als bei nur 1 ml. Um ein Testende schon nach 5 Minuten zu erreichen, wurde zur Beschleunigung des Testvorgangs handelsübliches Thromboplastin zugesetzt*.

Benötigte Materialien: Verwendet werden handelsübliche 15 ml-Reagenzröhrchen aus Glas, die mit Stöpsel verschlossen werden. Jedes Röhrchen wird mit genau 0,0043127 g $\text{Na}_2\text{-EDTA}^{**}$ ($\hat{=}$ 0,0000147 Mol) beschickt. Um dies zu realisieren, werden zuerst 4,3127 g $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ mittels einer Präzisionswaage in einen Meßkolben eingewogen und mit Aqua bidest ein Gesamtvolumen von 100 ml erstellt. Von dieser Stammlösung werden jeweils 0,1 ml mittels Mikropipette in jedes Reagenzröhrchen überführt. Anschließend werden die Röhrchen verschlossen.

Verwendet wird weiterhin eine Thromboplastinlösung, die für den "Quick-Test" angeboten wird und bei KÜhlschranktemperatur etwa 1 1/2 Jahre haltbar ist***. Die Testflüssigkeit hat nach Auskunft des Herstellers eine konstante spezifische Aktivität und wird aus Kaninchenhirn hergestellt. Benötigt werden pro Test 0,1 ml Thromboplastinlösung als Reaktionsbeschleuniger.

Schließlich werden noch eine 100 μl Pipette, 10,0 ml Kunststoff-Einmalspritzen und Einmalkanülen (z.B.

* auf Empfehlung von Herrn Dr.med.vet. D. Schillinger

** Titriplex III, Merck, Art.Nr. 59 294

*** Fa. Travenol GmbH, Nymphenburgerstr. 1, 8 München 2
Art.Nr. 7E 035 200

1,20 x 40 mm) benötigt.

Funktionsprinzip des Kalziumtests:

Die $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ -Vorlage im Teströhrchen ist so berechnet, daß 0,466 mg Kalzium (das ist die absolute Menge Gesamt-Kalzium, die im Serum von 10 ml Vollblut enthalten ist, wenn der Hämatokrit 33,5 Vol % und die Kalziumkonzentration im Serum 7 mg/dl beträgt) komplex abgebunden werden können. Dieses Kalzium steht dann nicht mehr für die Blutgerinnung zur Verfügung. Sind nun im Serum mehr als 7 mg/dl Kalzium vorhanden, so kann der exogene Blutgerinnungsweg noch ablaufen, und das Testblut gerinnt innerhalb von 5 Minuten nach Zugabe des Thromboplastins. Sind jedoch weniger als 7 mg Kalzium pro dl vorhanden, so ist praktisch das gesamte Kalzium durch EDTA abgebunden, und eine Gerinnung des Testblutes ist damit unmöglich. Aus dem Testergebnis "geronnen / nicht geronnen" ist auf diese Weise eine Aussage darüber möglich, ob der Blut-Kalziumgehalt des Tieres unter den Grenzwert von 7 mg/dl Serum abgesunken ist oder nicht.

Da der Reaktionsablauf bei einer geringen Restmenge von nicht an EDTA gebundenem Kalzium sehr langsam ist und bis zu 2 Stunden dauern kann (MAYER et al., 1965), wird das Thromboplastin als Reaktionsbeschleuniger eingesetzt. Mit der ermittelten Thromboplastinmenge ist es möglich, im positiven Fall den Koagulationsendpunkt und damit das Testergebnis schon innerhalb von 5 Minuten zu erreichen.

Auswertung der Reaktion. 5 Minuten nach Ansetzen des Testes wird die Reaktion wie folgt beurteilt:

- Probe koaguliert - Der Kalziumgehalt der Probe liegt über dem gewählten Grenzwert von 7 mg/dl.
- Probe nicht koaguliert - Der Kalziumgehalt der Probe liegt unter 7 mg/dl.
- Probe an der Grenze zur Koagulation (Schlieren und kleine Koagula sind sichtbar, beim Kippen

des Röhrchens fließt das Blut) - Der Kalziumgehalt der Probe liegt nahe am Grenzwert.

Ausführung des Kalziumtestes:

- Nachdem einige Tropfen Blut aus der in die Jugularvene eingeführten Kanüle abgeflossen sind, wird die Spritze bis über die 10,0 ml-Marke hinaus mit Blut abgefüllt und davon anschließend soviel verworfen, bis sich ein blasenfreier Inhalt von 10,0 ml ergibt.
- Im Rahmen der eigenen Versuche wurden außerdem noch je ein Reagenzröhrchen aus Kunststoff zur quantitativen Bestimmung des Kalziumgehaltes mittels der flammenphotometrischen Referenzmethode sowie zur Ermittlung des Hämatokritwertes mit Blut gefüllt.
- Die 10,0 ml Blut werden nun in das Reagenzröhrchen mit der $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ -Vorlage verbracht, dieses sofort verschlossen und zirka 20mal geschwenkt (nicht geschüttelt), um den Inhalt gut zu durchmischen.
- 0,1 ml der Thromboplastinlösung wird mit einer 100 Mikroliterpipette zusätzlich einpipettiert, und das Röhrchen wiederum etwa zehnmal zum Durchmischen geschwenkt.
- Jede volle Minute wird durch Kippen überprüft, ob eine Koagulation des Blutes eingetreten ist.

Quantitative Kalziumbestimmung mit der Referenzmethode:

Die zur flammenphotometrischen Serum-Kalziumanalyse vorgesehenen Blutproben wurden zur Serumgewinnung noch am selben Tag im praxiseigenen Labor abzentrifugiert. Die Proben wurden im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Die Hämatokritwerte wurden spätestens 1 Tag und die Serum-Kalziumwerte spätestens 4 Tage nach der Probenentnahme im Labor der II. Medizinischen Tierklinik in München ermittelt.

Ergebnisse

Ergebnisse von 2 Vorversuchen zur Ermittlung der erforderlichen Menge an Thromboplastinlösung zur Einstellung der gewünschten Reaktionszeit

Versuchsreihe 1: Testtemperatur war die vorherrschende Stalltemperatur von 25° C, als Testtier diente eine Fleckviehkuh mit einem Serum-Kalziumwert von 8,1 mg/dl.

In jeweils 4 Reagenzröhrchen kam die gleiche Menge Thromboplastinlösung, Gerinnungsanfang und -ende wurden festgehalten.

Dabei wurden folgende Reaktionszeiten ermittelt:

Anzahl der Ansätze	Thromboplastinmenge	Koagulationsanfang	Koagulationsende
4	0,5 ml	1 min	1,5 min
4	0,3 ml	1 min	3 min
4	0,2 ml	2 min	3 min
4	0,1 ml	3 min	4 min
4	0,05 ml	keine Gerinnung innerhalb von 10 Minuten.	

Die Reaktionsunterschiede innerhalb der verschiedenen Reihen lagen im Sekundenbereich.

Als niedrigste Thromboplastinmenge, die ausreichte, um innerhalb von 5 Minuten eine vollständige Gerinnung zu bewirken, wurden 0,1 ml ermittelt.

Versuchsreihe 2: Die Untersuchungsergebnisse der ersten Versuchsreihe sollten durch 20 Einzeltests an einer Kuh bestätigt werden.

Als Versuchstier diente eine klinisch gesunde Fleckviehkuh mit einer Körpertemperatur von 38,6° C und einem Serum-Kalziumwert von 10,2 mg/dl. Die Stalltemperatur betrug 26° C.

Die Kuh wurde mit Azepromazin sediert und ein Venen-dauerkatheter gelegt. Nach jeder Probenentnahme wurde physiologische Kochsalzlösung mit Heparin-zusatz in den Katheter instilliert, um zu verhindern, daß er durch Blutkoagula verlegt wird. Außerdem wurde er mit einem Mandrin verschlossen. Vor jeder Probenentnahme wurden 5 ml Blut verworfen.

In 18 Proben wurden jeweils 0,1 ml Thromboplastin-lösung einpipettiert und der Zeitpunkt von Anfang und Ende der Koagulation festgehalten.

Mit nur Sekundenunterschieden stellten sich bei den 18 Proben immer wieder die gleichen Werte ein:

- Koagulationsanfang nach 1,0 Minuten,
- Koagulationsende nach 1,5 Minuten.

Zwei Gegenproben als "Leerwert" ohne Thromboplastin-zufügung waren erst nach 18 bzw. 20 Minuten vollständig koaguliert.

Im Mittel verstrich zwischen der Blutprobenentnahme und dem Testbeginn (Zugabe des Thromboplastins) eine Zeitspanne von 2 Minuten; während dieser Zeit ließ das Testblut keinerlei Gerinnungsansätze erkennen.

In zwei an einer anderen Kuh mit einem Serum-Kalziumwert von 9,1 mg/dl durchgeführten Tests begann die Koagulation nach 2 Minuten und erreichte ihr Ende nach 2 Minuten 15 Sekunden.

Ergebnisse von Voruntersuchungen über die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit des Testes

In dieser Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob die Reaktionsgeschwindigkeit des Testes von der Umwelttemperatur abhängig ist. Ferner sollte ermittelt werden, ob die Koagulation auch bei sehr niedrigen Stalltemperaturen noch innerhalb von 5 Minuten abgeschlossen ist.

Als Versuchstier diente eine normokalzämische Fleckviehkuh (Ca: 9,4 mg/dl). Zunächst wurden zwei Tests bei Stalltemperaturen von 23,8° C durchgeführt. Dabei begann die Koagulation nach 1 Minute und endete nach 1 Minute 30 Sekunden.

Für die folgenden 10 Tests wurden die Reagenzröhrchen in ein Wasserbad von 10° C gestellt. Unter diesen Bedingungen begann das Blut nach 1 Minute 10 Sekunden zu gerinnen und nach 2 Minuten war die Koagulation abgeschlossen.

Der Koagulationsanfang verzögerte sich somit um durchschnittlich 10 Sekunden und die Gerinnungsdauer um 20 Sekunden.

Ergebnisse einer Voruntersuchung über die Trennschärfe des Blut-Kalziumschnelltestes in Grenzbereichen

Durch stufenweise Steigerung der vorgelegten EDTA-Menge sollte geprüft werden, wie genau sich mit dem Schnelltest die Kalziummenge in einem Testblut bestimmen läßt.

Zu diesem Zweck wurden zwei EDTA-Stammlösungen, wie bereits im Kapitel "Vorbereitungen zum Test" beschrieben, erstellt.

- Stammlösung 1: 0,1 ml = 100 μ l $\hat{=}$ 7 mg/dl
- Stammlösung 2: 0,1 ml = 100 μ l $\hat{=}$ 8 mg/dl.

Aus diesen Stammlösungen wurden durch Variation der in die Teströhrchen einpipettierten EDTA-Vorlage aus je 14 Einzeltests bestehende Testserien erstellt. Am Testprinzip und Ablauf wurde dabei nichts verändert.

Beispiel einer Testserie:

Stammlösung	Abgezogene bzw. zugefügte Stammlösungsmenge	Grenzwert des Blut-Kalziumtests	Röhrchennummer
Stammlösung 1	- 15 μ l	$\hat{=}$ 5,95 mg/dl	1
	- 10 μ l	$\hat{=}$ 6,30 mg/dl	2
	- 5 μ l	$\hat{=}$ 6,65 mg/dl	3
	0,1 ml = 100 μ l	$\hat{=}$ 7,00 mg/dl	4
	+ 5 μ l	$\hat{=}$ 7,35 mg/dl	6
	+ 10 μ l	$\hat{=}$ 7,70 mg/dl	8
Stammlösung 2	- 10 μ l	$\hat{=}$ 7,20 mg/dl	5
	- 5 μ l	$\hat{=}$ 7,60 mg/dl	7
	0,1 ml = 100 μ l	$\hat{=}$ 8,00 mg/dl	9
	+ 5 μ l	$\hat{=}$ 8,40 mg/dl	10
	+ 10 μ l	$\hat{=}$ 8,80 mg/dl	11
	+ 15 μ l	$\hat{=}$ 9,20 mg/dl	12
	+ 20 μ l	$\hat{=}$ 9,60 mg/dl	13
	+ 25 μ l	$\hat{=}$ 10,00 mg/dl	14

Die an 5 verschiedenen klinisch gesunden Fleckviehkühen durchgeführten Testreihen und die dazugehörenden flammenphotometrisch bestimmten Serum-Kalziumwerte sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 7: Ergebnisse von fünf Testreihen mit stufenweise gesteigerten EDTA-Mengen

Röhrchen Nr.	Kuh 1 *	Kuh 2 *	Kuh 3 *	Kuh 4 *	Kuh 5 *	Grenzwert des Blut-Kalziumtests (mg/dl)
1	1 min	1/2 min	1 min	3 min	1/2 min	5,95
2	"	"	"	"	3 min	6,3
3	"	"	1 1/2 min	"	"	6,65
4	"	2 min	"	4 min	"	7,0
5	"	4 min	"	-	"	7,2
6	1 min	3 min	3 min	"	"	7,35
7	1 1/2 min	galler-tig	"	"	3 min	7,6
8	3 min	-	"	"	6 min	7,7
9	2 min	"	3 min	"	-	8,0
10	4 min	"	-	"	"	8,4
11	-	"	"	"	"	8,8
12	"	"	"	"	"	9,2
13	"	"	"	"	"	9,6
14	"	"	"	"	"	10,0
Flammen-photometr. ermittelter Ca-Wert in mg/dl	8,5	7,64	8,2	7,0	7,7	

* = Gerinnungszeit = Zeit bis zum Ende der Gerinnung in Minuten

- = keine Gerinnung innerhalb von 5 Minuten

Mit der stufenweise vorgenommenen Steigerung der vorgelegten EDTA-Mengen in den Testansätzen dieser Vorversuchsreihe wurde aufgezeigt, daß der Blut-Kalziumschnelltest selbst in Grenzbereichen eine hohe Trennschärfe besitzt:

- Kuh Nr. 1 hatte einen Serum-Kalziumwert von 8,5 mg/dl
 - Röhrchen 10 (= 8,4 mg/dl) geronnen nach 4 min
 - Röhrchen 11 (= 8,8 mg/dl) nicht geronnen.
- Kuh Nr. 2 hatte einen Serum-Kalziumwert von 7,64 mg/dl
 - Röhrchen 6 (= 7,35 mg/dl) geronnen nach 3 min
 - Röhrchen 7 (= 7,6 mg/dl) Schlieren und Koagula sichtbar.
 - Röhrchen 8 (= 7,7 mg/dl) nicht geronnen.
- Kuh Nr. 3 hatte einen Serum-Kalziumwert von 8,2 mg/dl
 - Röhrchen 9 (= 8,0 mg/dl) geronnen nach 3 min
 - Röhrchen 10 (= 8,4 mg/dl) nicht geronnen.
- Kuh Nr. 4 hatte einen Serum-Kalziumwert von 7,0 mg/dl
 - Röhrchen 4 (= 7,0 mg/dl) geronnen nach 4 min
 - Röhrchen 5 (= 7,2 mg/dl) nicht geronnen.
- Kuh Nr. 5 hatte einen Serum-Kalziumwert von 7,7 mg/dl
 - Röhrchen 8 (= 7,7 mg/dl) geronnen nach 6 min
 - Röhrchen 9 (= 8,0 mg/dl) nicht geronnen.

Ergebnisse des Feldversuchs mit dem Schnelltest zur semiquantitativen Bestimmung des Blut-Kalziumgehaltes an 104 festliegenden Kühen

Von 104 in der Hauptversuchsreihe durchgeführten Blutuntersuchungen ergaben 90 (= 86,53 %) eine Übereinstimmung mit dem flammenphotometrisch bestimmten Kontrollwert.

Tabelle 8: Vergleich der Ergebnisse von 104 mit dem EDTA-Test durchgeführten semiquantitativen Kalziumbestimmungen mit denen der quantitativen flammenphotometrischen Untersuchung

		Ergebnis der quantitativen flammenphotometrischen Analyse		
		Ca über 7 mg/dl	Ca unter 7 mg/dl	
Ergebnis des semiquantitativen EDTA-Tests	Ca über 7 mg/dl	57	11	68
	Ca unter 7 mg/dl	3	33	36
		60	44	104

- Testempfindlichkeit: 75 %
- Testspezifität: 95 %
- Testrichtigkeit: 87 %
 - pvT + 92 %
 - pvT - 84 %
- Prävalenz: 42 %

In der folgenden Tabelle 9 werden die Ergebnisse des Schnelltests gemäß den Ergebnissen der photometrischen Referenzmethode, in Stufen von jeweils 1,0 mg/dl Kalzium geordnet, wiedergegeben. Die "Testrichtigkeit" in den einzelnen Stufen schwankte zwischen 58 und 100 %.

Während im Gesamtdurchschnitt aller Proben eine Testrichtigkeit von 87 % erreicht wurde, lag sie bei Werten von 2,0 - 6,9 mg/dl Kalzium im Blutserum bei durchschnittlich 75 % und bei Werten von 7,0 - 11,9 mg/dl bei durchschnittlich 95%.

Tabelle 9: Stufenweise Zuordnung der Ergebnisse des Schnelltests zu den flammenphotometrisch ermittelten Kalziumkonzentrationen

Ca mg/dl	Anzahl der Proben	Übereinstimmung der Ergebnisse*	Testricht- tigkeit**
2,0 - 2,9	2	2	100
3,0 - 3,9	8	8	100
4,0 - 4,9	5	4	80
5,0 - 5,9	7	4	58
6,0 - 6,9	22	15	68
7,0 - 7,9	24	24	100
8,0 - 8,9	22	20	91
9,0 - 9,9	6	5	83
10,0 - 10,9	6	6	100
11,0 - 11,9	2	2	100
2,0 - 11,9	104	90	87
2,0 - 6,9	44	33	75 ***
7,0 - 11,9	60	57	95 ****

- * Ergebnis des Schnelltests und Ergebnis der flammenphotometrischen Referenzmethode stimmen überein, z.B. Ca 7 mg/dl oder Ca 7 mg/dl
- ** Testrichtigkeit in den einzelnen Stufen der Kalziumkonzentration in Prozent
- *** Testempfindlichkeit
- **** Testspezifität

Bei dem Schnelltest werden 4,313 mg $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ verwendet, um 0,466 mg Ca^{++} abzubinden. Das ist die Kalziummenge, die in 10 ml Vollblut mit einer Konzentration von 7,0 mg Kalzium pro dl Blut bei einem Hämatokritwert von 33,5 % vorhanden ist.

Bei gleicher Kalziumkonzentration befindet sich in 10 ml Vollblut bei erhöhtem Hämatokritwert eine geringere Kalziummenge als bei erniedrigtem Hämatokritwert. Aus diesem Grund wäre ein Einfluß des Hämatokrits auf das Ergebnis des Schnelltests denkbar.

Die Aussage des Schnelltests variiert bei einer Veränderung des Hämatokritwertes insofern, als bei einem höheren Hämatokritwert des Testblutes ein höherer Testgrenzwert und bei einem niedrigeren Hämatokritwert des Testblutes auch ein niedrigerer Testgrenzwert als der von 7 mg/dl ausgetestet wird.

Faßt man eine Vielzahl von wahren Testgrenzwerten in Abhängigkeit vom Hämatokrit zusammen, so ergibt sich daraus eine sogenannte "Kennlinie" des Schnelltestes, die in der Abbildung 2 dargestellt ist.

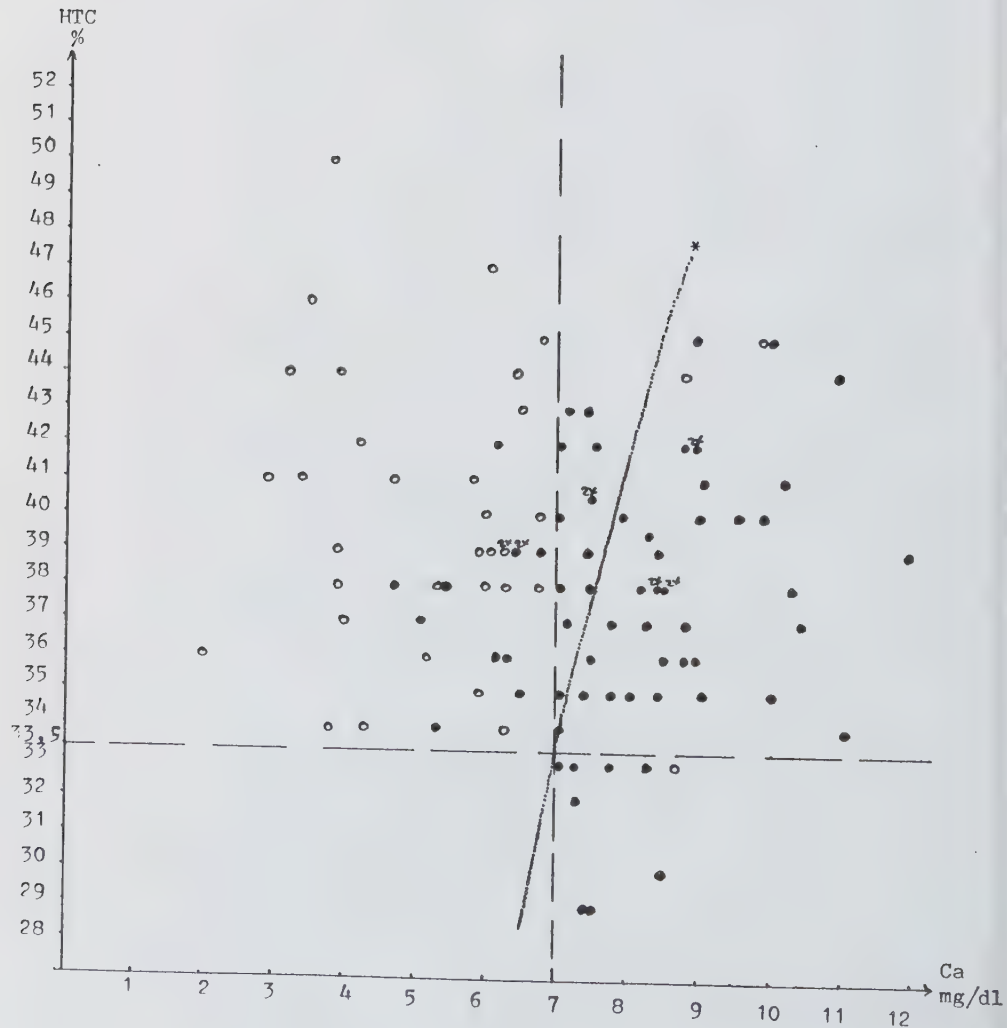
In diese Abbildung sind weiterhin alle 104 im Hauptversuch photometrisch ermittelten Kontrollwerte unter Berücksichtigung des jeweiligen Hämatokritwertes und des Ergebnisses des Schnelltestes eingetragen. Alle Punkte rechts von der Kurve entsprechen $>0,466$ mg Ca in 10 ml Vollblut; alle Punkte links von der Kurve entsprechen $\leq 0,466$ mg Ca in 10 ml Vollblut.

Abbildung Nr. 2 : Darstellung der Ergebnisse des Schnelltestes, der Hämatokritbestimmung und der photometrischen Referenzmethode im Bezug zur "Kennlinie" des Schnelltestes.

Das Ergebnis des Schnelltestes ist dargestellt als: o = Probe nicht geronnen

• = Probe geronnen

* = "Kennlinie" des Schnelltestes



Bei 95 von 104 Proben war der Hämatokritwert normal bzw. erhöht, lediglich 9 Proben wiesen einen erniedrigten Hämatokritwert auf.

Alle diese 9 Proben hatten einen Serum-Kalziumgehalt von über 7 mg/dl, 8 davon bewertete der Test richtig und nur 1 falsch. Diese Probe stammte von einer Fleckviehkuh mit Hämaturie und Festliegen p.p..

Von den 95 Proben mit normalem bzw. erhöhtem Hämatokrit hatten 43 einen Kalziumwert unter 7 mg/dl und 54 einen Kalziumgehalt von über 7 mg/dl.

Von den unter 7 mg/dl liegenden Proben ermittelte der Test 32 richtig und 11 falsch. Von den 54 über 7 mg/dl liegenden Proben wurden vom Schnelltest 52 richtig und nur 2 falsch ausgewiesen.

12 Proben lagen mit ihrer Kalziumkonzentration über dem angenommenen Testwert von 7 mg/dl, aber unter den Grenzwerten der erstellten "Kennlinie" des Schnelltestes. Alle diese 12 Proben wurden vom Test richtig als über 7 mg/dl liegend klassifiziert.

In der Tabelle 10 werden die Ergebnisse des Schnelltestes mit den flammenphotometrisch bestimmten Serum-Kalziumgehalten der 104 festliegenden Probanden verglichen und die dazugehörigen klinischen Befunde und/ oder Diagnosen angegeben.

Tabelle 10: Vergleich der Ergebnisse des modifizierten Schnelltests mit den flammenphotometrisch bestimmten Serum-Kalziumgehalten bei 104 Tieren, geordnet nach steigenden Serum-Kalziumgehalten

- * = Gerinnungszeit des Schnelltests in Minuten
- = keine Gerinnung innerhalb von 5 Minuten
- HK = Hämatokritwert in Volumenprozent
- ** = flammenphotometrisch bestimmter Serum-Kalziumgehalt in mg/dl
- *** = Übereinstimmung der Ergebnisse der flammenphotometrischen Blut-Kalziumbestimmung mit dem Ergebnis des Schnelltests bezogen auf den gewählten Grenzwert von 7 mg/dl Kalzium im Blut-Serum
 - + = Übereinstimmung (Ca 7 mg/dl und keine Gerinnung bzw. Ca 7 mg/dl und Gerinnung)
 - = keine Übereinstimmung (Ca 7 mg/dl und keine Gerinnung bzw. Ca 7 mg/dl und Gerinnung)
- **** = absoluter Kalziumgehalt der Blutproben in mg

Lfd. Nr.	*	HK	**	***	****	Klinischer Befund/Diagnose
52	-	36	2,0	+	0,128	Festl. nach Schweregeburt
50	-	41	2,9	+	0,171	Gebärparese, Koma
102	-	44	3,2	+	0,179	Gebärparese, Koma
33	-	41	3,4	+	0,200	Gebärparese, Koma
101	-	46	3,5	+	0,189	Gebärparese, Koma
37	-	34	3,8	+	0,251	Gebärparese

Lfd. Nr.	*	HK	**	***	****	Klinischer Befund/Diagnose
71	-	50	3,8	+	0,190	Gebärparese, Koma
67	-	38	3,9	+	0,242	Festl. 1 h p.p.
51	-	39	3,9	+	0,238	Festl. p.p., Rez. [®] n. Gebärparese
87	-	44	3,9	+	0,218	Gebärparese
3	-	37	4,0	+	0,252	Gebärparese, Koma
38	-	42	4,2	+	0,244	Festl. 1 Tag p.p.
42	-	34	4,3	+	0,284	Festl. 8 Tage p.p., Azetonämie
60	5,0	38	4,7	-	0,291	Gebärparese, Koma
46	-	41	4,7	+	0,277	Gebärparese
61	2,0	37	5,1	-	0,321	Festl. p.p., Rez. n. Gebärparese
16	-	36	5,2	+	0,333	Gebärparese, Koma
19	1,0	34	5,3	-	0,349	"Puerperales Leberkoma"
47	-	38	5,3	+	0,329	Festl. p.p., Azetonämie
66	2,0	38	5,4	-	0,335	Festl. p.p., Azetonämie
76	-	35	5,9	+	0,384	Gebärparese, Koma
99	-	39	5,9	+	0,360	Gebärparese
72	-	38	6,0	+	0,372	Festl. p.p., Prolapsus uteri
10	-	40	6,0	+	0,360	Gebärparese
48	-	39	6,1	+	0,372	Gebärparese, Azetonämie
27	-	41	6,1	+	0,360	Gebärparese
49	-	47	6,1	+	0,323	Gebärparese, Rez., Azetonämie
25	2,0	36	6,2	-	0,400	Festl. p.p., Muskelriß
15	4,0	42	6,2	-	0,360	Festl. p.p.
17	-	34	6,3	+	0,416	Festl. p.p.
70	3,0	36	6,3	-	0,403	Festl. 2 Tage p.p., Azetonämie

[®] Rez. = Rezidiv

Lfd. Nr.	*	HK	**	***	****	Klinischer Befund/Diagnose
4	-	38	6,3	+	0,390	Gebärparese, Koma
65	-	39	6,3	+	0,384	Festl. p.p., Azetonämie
74	-	39	6,3	+	0,384	Festl. p.p., Rez. ⁶
54	2,0	39	6,4	-	0,390	Gebärparese
62	2,0	39	6,4	-	0,390	Festl. n. Schweregebur
88	-	44	6,4	+	0,358	Gebärparese, Rez.
59	3,0	35	6,5	-	0,422	Gebärparese, Azetonämie
83	-	41	6,5	+	0,384	Festl. n. Schweregebur
78	-	43	6,5	+	0,371	Festl. i.p., Wehenschwäche
7	-	38	6,8	+	0,422	Gebärparese
18	3,0	39	6,8	-	0,415	"Puerperales Leberkoma"
103	-	40	6,8	+	0,408	Festl. p.p., Azetonämie
90	-	45	6,8	+	0,374	1 Tag p.p., klin. o.b.B.
97	5,0	33	7,1	+	0,476	Festl., Rez.
39	3,0	34	7,1	+	0,469	Festl. 2 Tage p.p., Scheidenhämatom
40	2,0	35	7,1	+	0,462	Festl. p.p.
55	2,0	38	7,1	+	0,440	Festl. p.p., Rez. n. Gebärpare
14	3,0	40	7,1	+	0,426	Festl. p.p.
89	5,0	42	7,1	+	0,412	Festl. p.p., Rez. n. Gebärpare
31	3,0	37	7,2	+	0,454	Muskelriß Festl. 1 Tag a.p.
30	5,0	43	7,2	+	0,410	Festl. p.p., Rez.
30	2,0	32	7,3	+	0,496	Festl. p.p.
79	5,0	43	7,3	+	0,416	Festl. p.p., Rez.
92	4,0	29	7,4	+	0,525	Festl. 2 Tage p.p., Nervenlä
53	2,0	35	7,4	+	0,481	Festl. p.p., Rez. n. Gebärpare

⁶ Rez. = Rezidiv

Lfd. Nr.	*	HK	**	***	****	Klinischer Befund/Diagnose
29	2,0	39	7,4	+	0,451	Festl. p.p. n. Schweregeburt
100	5,0	43	7,4	+	0,422	Festl. p.p., Endometritis
68	5,0	29	7,5	+	0,532	Festl. p.p.
8	4,0	36	7,5	+	0,480	Festl. p.p., Rez.* n. Gebärpapese
63	2,0	38	7,5	+	0,465	Festl., septische Mastitis
21	1,0	40	7,5	+	0,450	Festl. i.p.
98	5,0	40	7,5	+	0,450	Festl. p.p., Rez., Azetonämie
57	3,0	42	7,6	+	0,441	Festl. 3 h p.p.
28	5,0	33	7,8	+	0,523	Festl. p.p., subklinische Ketose
64	3,0	35	7,8	+	0,507	Festl. 2 h p.p.
81	4,0	37	7,8	+	0,491	Festl. p.p., Peritonitis
5	1,0	40	7,9	+	0,474	Festl. p.p.
82	4,5	35	8,1	+	0,527	Festl. a.p.
58	2,0	38	8,2	+	0,508	Festl. p.p.
20	2,0	33	8,3	+	0,556	Festl. p.p., Myokarditis
41	2,0	37	8,3	+	0,520	Festl. a.p., Reticuloperitoni- tis traumatica
11	2,5	40	8,3	+	0,498	Mastitis paralytica
96	2,0	35	8,4	+	0,546	Festl. i.p., Wehenschwäche
44	2,5	38	8,4	+	0,520	Festl. p.p., Beckenbruch
104	5,0	38	8,4	+	0,520	Festl. p.p., Rez., Azetonämie
22	1,0	39	8,4	+	0,512	Festl. p.p.
13	3,0	30	8,5	+	0,595	Mastitis paralytica
32	2,0	36	8,5	+	0,544	Festl. i.p., Wehenschwäche
6	2,0	38	8,5	+	0,527	Festl. p.p., Rez.
45	2,0	38	8,5	+	0,527	Festl. p.p., Azetonämie

* Rez. = Rezidiv

Lfd. Nr.	*	HK	**	***	****	Klinischer Befund/Diagnose
34	-	33	8,7	-	0,583	Festl. p.p., Hämaturie
26	5,0	36	8,8	+	0,563	Festl. i.p., Kachexie
69	2,0	37	8,8	+	0,554	Festl. p.p., Azetonämie
1	-	44	8,8	-	0,493	Festl. p.p.
56	1,0	42	8,8	+	0,510	Festl. 3 h p.p.
43	2,0	36	8,9	+	0,570	Festl. 3 h p.p.
84	3,0	42	8,9	+	0,516	Festl. 2 Tage p.p., Rez. [®] , Nervenläsion
94	2,0	42	8,9	+	0,516	Festl. p.p., Nervenläsion
36	5,0	45	8,9	+	0,489	Mastitis paralytica
75	2,0	40	9,0	+	0,540	klinisch o.b.B.
12	2,0	35	9,1	+	0,592	Mastitis paralytica
24	1,0	41	9,1	+	0,537	Festl. p.p. n. Schweregebur
23	2,0	40	9,6	+	0,576	Festl. p.p.
2	2,5	40	9,8	+	0,588	Festl. p.p. n. Schweregebur
35	-	45	9,8	-	0,539	Festl. p.p., Rez., Hämaturie
93	2,0	35	10,0	+	0,650	Festl. p.p., Rez., Nervenläsion
86	2,0	45	10,0	+	0,550	Festl. p.p., Rez., Nervenläsion
85	2,0	41	10,2	+	0,600	Festl. p.p., Rez., Nervenläsion
95	2,0	38	10,3	+	0,638	Festl. p.p., Rez., Nervenläsion
91	2,0	37	10,4	+	0,655	Festl. a.p., Muskelriß
73	1,0	44	10,9	+	0,610	klinisch o.b.B.
9	2,0	34	11,1	+	0,732	Festl. p.p.
77	2,0	39	11,9	+	0,726	klinisch o.b.B.

[®] Rez. = Rezidiv

In der Übersicht 2 werden die Befunde der untersuchten Kühe unter Berücksichtigung des Grades der festgestellten Beeinträchtigung des Sensoriums, tabellarisch in 8 Patientengruppen aufgeteilt, wiedergegeben.

Übersicht 2: Klinische Befunde der untersuchten Kühe ohne Berücksichtigung der Ergebnisse des Schnelltestes. Einteilung der Probanden nach dem festgestellten Grad der Beeinträchtigung des Sensoriums in Patientengruppen (1 - 8).

Sensorium gestört	1 Gebärpause	
	1A Festliegen, Sensorium stark gestört, Koma	10 Tiere
	1B Festliegen, Sensorium leicht gestört	10 Tiere
	1C Rezidivierendes Festliegen, Sensorium leicht gestört	2 Tiere
	2 Festliegen, "puerperales Leberkoma"	2 Tiere
Sensorium nicht gestört	6 Rezidivierendes Festliegen p.p. (nach Gebärpause)	6 Tiere
	4 (schwer-)geburtsbedingtes Festliegen	13 Tiere
	5 anderweitige peripartale Erkrankungen mit Festliegen	30 Tiere
	3 Festliegen ohne erkennbare Ursache	16 Tiere
	7 Rezidivierendes Festliegen nach Erkrankungen im Sinne der Gruppen 3, 4 und 5	12 Tiere
	8 Kontrollgruppe, klinisch o.b.B.	3 Tiere
		104 Tiere

24 Tiere wiesen ein gestörtes Sensorium auf, 80 Tiere zeigten keine Beeinträchtigung der Sinneswahrnehmungen.

Abbildung 3: Graphische Darstellung des Anteiles der in den einzelnen Patientengruppen aus Übersicht 2 mit dem Schnelltest richtig erkannten Hypokalzämien, bezogen auf den photometrisch ermittelten Blut-Kalziumgehalt

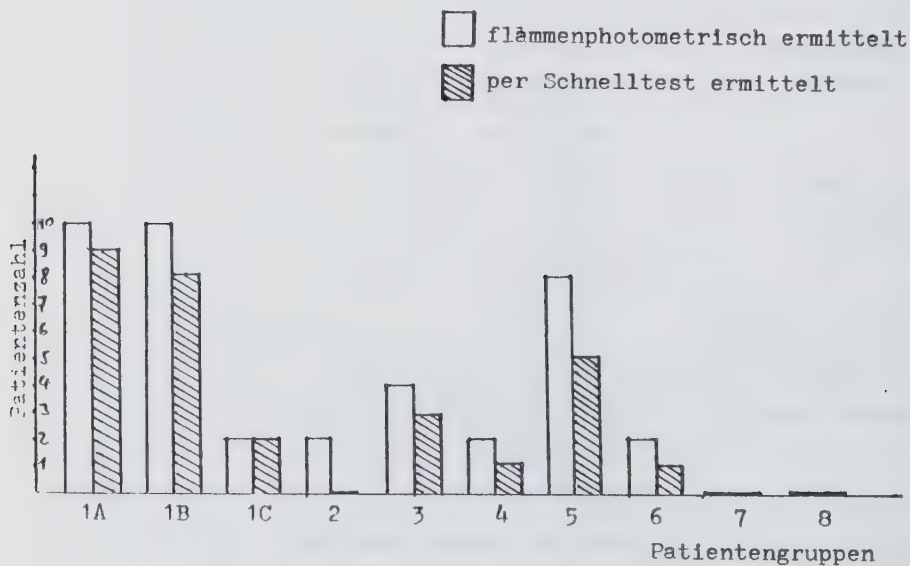
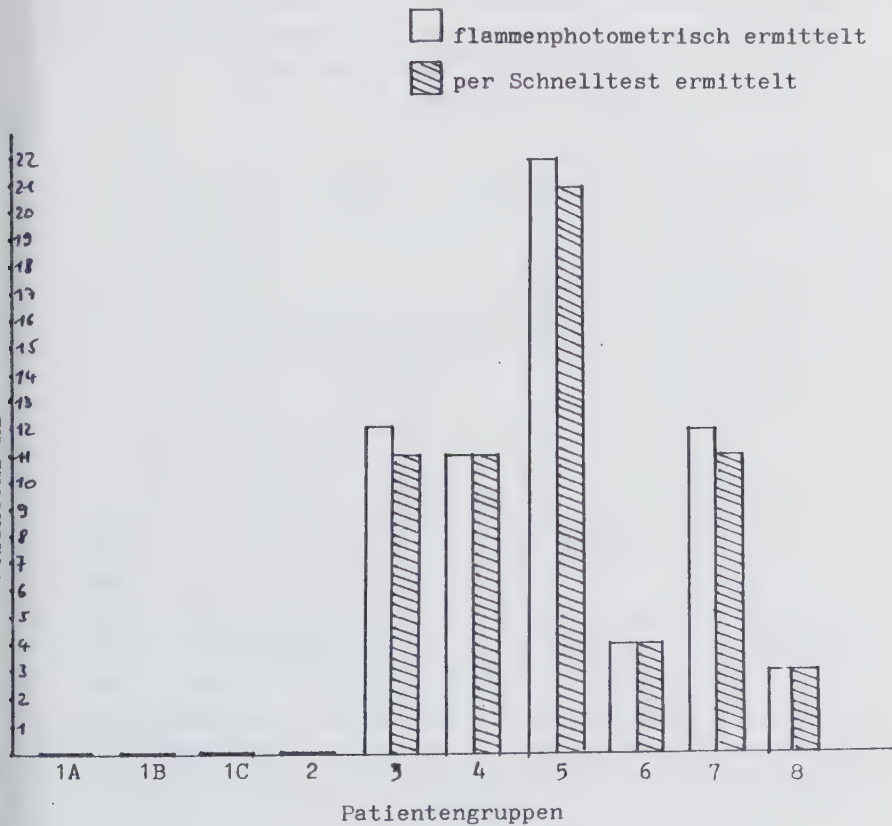


Abbildung 4: Graphische Darstellung des Anteiles der in den einzelnen Patientengruppen aus Übersicht 2 mit dem Schnelltest richtig erkannten Werte von sieben und mehr mg/dl Kalzium im Blutserum, bezogen auf den photometrisch ermittelten Blut-Kalziumgehalt



DISKUSSION

Um die von MAYER et al. (1965) und SANDHOLM et al. (1979) beschriebenen semiquantitativen Bestimmungsmethoden von Kalzium im Blutserum mit der vorgestellten Modifikation dieser beiden Tests bezüglich ihrer Brauchbarkeit für die tierärztliche Landpraxis vergleichen zu können, wurden die Untersuchungsergebnisse beurteilt nach Empfindlichkeit, Spezifität, Richtigkeit, Prävalenz, Prädiktiver Wert des positiven Tests, Prädiktiver Wert des negativen Tests (Definitionen siehe S. 24) und Prädiktiver Wert des positiven Tests bei einer angenommenen Prävalenz von 50 % (= pvT + Präv.50).

Zum Vergleich können die Ergebnisse der Untersuchungen von HARRY (1973), MARTIG et al. (1974) und REITZ (1978), die sich mit dem EDTA-Test nach MAYER et al. (1965) befassten, sowie diejenigen von SANDHOLM et al. (1979) herangezogen werden.

Diese Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 11 zusammengefaßt.

Tabelle 11: Vergleich der Ergebnisse von HARRY (1973), MARTIG et al. (1974), REITZ (1978), SANDHOLM et al. (1979) mit denen den eigenen Untersuchungen

	Test nach MAYER et al. (1965)			Test nach SANDHOLM et al. (1979)	Eigene Untersuchungen
	HARRY (1973) %	MARTIG et al. (1974) %	REITZ (1978) %		
Empfindlichkeit	22	95	81	89	75
Spezifität	52	100	63	94	95
Richtigkeit	48	98	70	91	87
pvT +	6	100	61	96	92
pvT -	82	97	81	84	84
Prävalenz	13	40	42	56	42
pvT + Präval. 50	44	100	71	94	94

Die geringste Übereinstimmung erbrachte der EDTA-Test nach MAYER et al. (1965) in der Versuchsreihe von HARRY (1973). HARRY (1973) kommt vor allem wegen des schlechten pvT + -Wertes von 6 % zu dem Schluß, der Schnelltest nach MAYER et al. (1965) sei als Bestimmungsmethode für den Blut-Kalziumwert nicht zuverlässig genug. Die Prävalenz in seiner Versuchsreihe ist jedoch mit 13 % äußerst gering.

MARTIG et al. (1974) sowie REITZ (1978) erzielten bei ihren Untersuchungen mit der semiquantitativen Bestimmungsmethode nach MAYER et al. (1965) bei einer Prävalenz von 40 bzw. 42 Prozent insgesamt deutlich bessere Resultate. In ihren Versuchsreihen erhielten sie eine Test-Richtigkeit von 98 bzw. 70 %, was MARTIG et al. (1974) dazu veranlaßte, den EDTA-Test nach MAYER et al.

(1965) als ausreichend sichere Methode zur Schnellbestimmung des Blut-Kalziumgehaltes zu bezeichnen, während REITZ (1978) dies verneinte.

Der Schnelltest nach SANDHOLM et al. (1979) ergab eine Empfindlichkeit von 89 %, eine Spezifität von 94 % und einen pvT + -Wert von 96 % bei einer Prävalenz von 56 %, d.h. bessere Resultate als derjenige nach MAYER et al. (1965) und kann daher als geeignet erachtet werden.

Die in den eigenen Untersuchungen benutzte Version der obigen Methode wies eine Empfindlichkeit von 75 %, eine Spezifität von 95 % und einen pvT + -Wert von 92 % bei einer Prävalenz von 42 % auf. Diese Testmethode ist aufgrund dieser Resultate ebenfalls als brauchbar für die tierärztliche Landpraxis einzustufen.

Für einen Landpraktiker ist die Anwendung der beschriebenen Schnelltests am Tier gleich einfach. Solange jedoch keine der Testmethoden in Form einer Fertigpackung im Handel erhältlich ist, gilt, daß der Schnelltest nach SANDHOLM et al. (1979) bedingt durch seinen mehrstufigen Reaktionsaufbau für einen praktischen Tierarzt schwerer herzustellen ist.

In Vorversuchen wurde aufgezeigt, daß der modifizierte Test bei stufenweise vorgenommener Steigerung der vorgelegten EDTA-Mengen in den Testansätzen eine ausreichend hohe Trennschärfe hat. Das vergleichsweise schlechte Abschneiden des EDTA-Testes nach MAYER et al. (1965), der im Testaufbau dieser Vorversuchsreihe ähnelt, könnte im fehlenden Einsatz eines geeigneten Blutgerinnungsbeschleunigers begründet sein. MAYER et al. (1965) gaben für ihre Bestimmungsmethode an, daß das Testergebnis bei Raumtemperaturen

erst "nach einem Zeitraum bis zu 2 Stunden" ablesbar ist, im Wasserbad bei 37° C dagegen schon nach 15 Minuten. Es ist durchaus denkbar, daß - trotz Einhaltung einer konstanten Test-Temperatur von 37° C - in den Versuchen von HARRY (1973) und MARTIG et al. (1974) die Reaktion in einigen Testansätzen nach 15 Minuten noch nicht beendet war. REITZ (1978) wählte in seinen Versuchen mit dem EDTA-Test nach MAYER et al. (1965) als Testtemperatur die jeweilige Außentemperatur und las die Reaktion stündlich ab, bis keine Veränderung mehr feststellbar war. Er erhielt auf diese Weise wesentlich bessere Resultate als HARRY (1973) und MARTIG et al. (1974).

In den eigenen Untersuchungen wurden 0,1 ml Thromboplastinlösung hinzugefügt. Diese Menge wurde in Vorversuchen als ausreichend ermittelt, um die Reaktion innerhalb eines Zeitraumes von 5 Minuten sicher zum Abschluß zu bringen. Eine geringfügig größere Menge an Thromboplastin beeinflusst das Ergebnis nicht wesentlich, das Reaktionsende wird lediglich schneller erreicht. Aus diesem Grunde ist es auch durchaus vertretbar, wenn an Stelle einer teuren Mikropipette (wie in der Versuchsreihe) eine feingraduierte Insulin-Kunststoffspritze (1,0 ml) für das Abmessen der benötigten Mindestmenge an Thromboplastin verwendet wird.

Wie in Vorversuchen ermittelt wurde, bleibt in einem Temperaturbereich von 10° C - 24° C die Testtemperatur ohne Einfluß auf den Reaktionsablauf. Nach 5 Minuten ist das Ergebnis des Schnelltestes stets ablesbar.

MARTIG et al. (1974) halten Fehler beim Einpipettieren der 1,0 ml Blutmenge in die Teströhrchen für eine Ursache falscher Testergebnisse. Pipettierfehler von 0,1 ml ergeben bei 1 ml Testblut bereits 10 % Abweichung, bei 10 ml Testblut jedoch nur 1 % Abweichung. Aus diesem Grund werden bei der modifizierten Schnellmethode zur Bestimmung der Blut-Kalziumkonzentration genau wie bei der Bestimmungsmethode nach SANDHOLM et al. (1979) 10 ml Vollblut verwendet. Verschmutzung der verwendeten Materialien für den Test ist möglicherweise ebenfalls eine Ursache für falsche Testergebnisse. Nachdem durch die Ergebnisse der photometrischen Referenzmethode aufgefallen war, daß sich ab der laufenden Testnummer 59 falsche Resultate des Schnelltests häuften, erbrachte die Fehlersuche eine Verschmutzung der Thromboplastinlösung. Nach Verwendung einer neuen Thromboplastinlösung wurden wieder gleichgute Ergebnisse wie zuvor erzielt. Die Fehlresultate wirkten sich vor allem negativ auf den Faktor "Testempfindlichkeit" aus, da 6 Blutproben nacheinander geronnen waren, obwohl der photometrisch ermittelte Serum-Kalziumwert unter 7 mg/dl lag.

MAYER et al. (1965), MARTIG et al. (1974) und SANDHOLM et al. (1979) gaben als mögliche Quelle für falsche Ergebnisse der semiquantitativen Schnellmethoden zur Bestimmung des Serum-Kalziumgehaltes eine Abweichung des Hämatokritwertes von dem bei der Erstellung der Tests berücksichtigten Wert von 33,3 % an. Rein rechnerisch mußte ein EDTA-Schnelltest bei hohem Hämatokritwert zu niedrige Werte anzeigen und umgekehrt (MARTIG et al., 1974). MARTIG et al. (1974) kamen deshalb zu dem Schluß, daß mindestens 6 ihrer 14 vom tatsächlichen Wert abweichenden Resultate mit einem außerhalb der Norm

liegenden Hämatokritwert erklärt werden können.

In den eigenen Versuchen konnte wie in Abbildung 2 aufgezeigt wurde, kein negativer Einfluß veränderter Hämatokritwerte auf die Testaussage bezüglich der gewählten Grenze von 7 mg/dl festgestellt werden, obwohl dies die in der Abbildung 2 eingetragene "Kennlinie" des Testes vermuten lassen könnte.

Die 12 Proben mit einem höheren Hämatokrit als 33,5 %, die mit ihrer Serum-Kalziumkonzentration zwischen dem Testwert von 7 mg/dl und den dazugehörigen Grenzwerten der erstellten "Kennlinie" des Testes unter Berücksichtigung des Hämatokritwertes lagen, sind in folgender Tabelle 12 noch einmal zusammengefaßt.

Tabelle 12: Zusammenstellung aller 12 Proben mit einem Hämatokrit über 33,5 % und Serum-Kalziumkonzentrationen zwischen dem Testwert von 7 mg/dl und den dazugehörigen Grenzwerten der "Kennlinie" des Testes unter Berücksichtigung des Hämatokritwertes

HK	*	**
35	7,1	0,462
37	7,2	0,454
38	7,1	0,440
38	7,5	0,465
39	7,4	0,451
40	7,1	0,426
40	7,5	0,450
40	7,5	0,450
42	7,1	0,426
42	7,6	0,441
43	7,2	0,410
43	7,4	0,451

* = flammenphotometrisch bestimmter Serum-Kalziumgehalt in mg/dl

** = absoluter Kalziumgehalt der Proben in mg

Diese 12 Proben verhielten sich in ihrer Testaussage bezüglich der tatsächlichen Kalziumkonzentration unbeeinflusst von ihrem Hämatokritwert richtig, obwohl ihre absoluten Kalziumgehalte mit Werten von 0,410 mg bis 0,466 mg Ca^{++} knapp unterhalb des eingestellten Testwerts von 0,466 mg Ca^{++} lagen.

Von den 104 im peripartalen Zeitraum festliegenden Tieren hatten 95 einen über 33,5 % liegenden Hämatokritwert. Die Beobachtung, daß liegende Rinder, bedingt durch die Anbringung der Tränkevorrichtungen im Stall oftmals nicht in der Lage sind, ihren Wasserbedarf selbst zu decken, könnte als Erklärung für die gefundenen Hämatokritwerte dienen.

Alle 22 Tiere, bei denen die klinische Diagnose "hypokalzämische Gebärlähmung" gestellt wurde, hatten auch tatsächlich einen flammenphotometrisch bestätigten Wert von unter 7 mg Kalzium pro dl Blutserum. Die Testempfindlichkeit lag bei diesen Tieren bei 86 %.

Von den 77 Kühen mit Festliegen ohne Störung des Sensoriums hatten 61 Tiere einen Wert von 7 mg Kalzium pro dl Blutserum und darüber. Von diesen Tieren wurden 93 % mittels des Schnelltestes richtig klassifiziert. Die geprüfte Methode zur semiquantitativen Bestimmung des Kalziumgehaltes im Blutserum ist nicht zuletzt aus diesem Grund als eine große Hilfe für den Landpraktiker in der Diagnostik des "Festliegens" mit freiem Sensorium anzusehen. Er kann dazu beitragen, Fehlbehandlungen an festliegenden Kühen zu vermeiden.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde an 104 im peripartalen Zeitraum festliegenden Milchkühen eine Schnellmethode zur semiquantitativen Ermittlung der Kalziumkonzentration im Blutserum auf ihre Brauchbarkeit für die tierärztliche Landpraxis geprüft.

Die von SANDHOLM, JÖNSSON, PEHRSON und ZEVI (1979) beschriebene Methode wurde in der Weise abgeändert, daß das Kalzium nunmehr in der Probe ohne Zwischenschritte durch eine Na_2 -EDTA-Vorlage in den Teströhrchen bis zum Grenzwert von 0,46 mg Ca^{++} chemisch gebunden wird. Dieser Grenzwert entspricht der Kalziummenge, die im Serumanteil einer Probe von 10 ml Vollblut vorhanden ist, wenn die Kalziumkonzentration im Serum 7 mg/dl und der Hämatokrit 33,5 % betragen. Um ein Testresultat nach spätestens 5 Minuten zu erreichen, wird ein handelsübliches Thromboplastin der Probe zugesetzt.

Die vorgestellte semiquantitative Bestimmungsmethode für Kalzium im Blut zeigte im Feldversuch eine Empfindlichkeit von 75 %, eine Spezifität von 95 % und eine Richtigkeit von 87 %. Der prädiktive Wert des positiven Tests lag bei 92 % und der prädiktive Wert des negativen Tests bei 42 %.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse können die Schnellmethode zur semiquantitativen Kalziumbestimmung im Blut nach SANDHOLM et al. (1979) und deren hier beschriebene Variation als brauchbare diagnostische Hilfen zur Erkennung von Hypokalzämien beim Rind angesehen werden.

SUMMARY

Investigations on the Usefulness of a Semi-quantitative Method for Determination of the Blood Calcium Content in Cows.

The present thesis tested a quick method for the semi-quantitative determination of the concentration of calcium in blood serum of cattle in terms of its usefulness in bovine practice, on the basis of 104 recumbent dairy cows during the peripartum period.

The method described by SANDHOLM, JÖNSSON, PEHRSON and ZEWI (1979) was altered so that calcium can now be chemically bonded in the sample without any intermediary steps by means of a $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ -deposit in the test tube up to a threshold-level of 0,466 mg Ca^{++} . This threshold-level corresponds to the amount of calcium which is found in a 10 ml blood sample with a calcium concentration of 7 mg/dl serum and a hematocrit of 33,5 %. In order to obtain results within five minutes at the most, a standard thromboplastin is added to the sample.

In field tests, the semi-quantitative method for measuring calcium levels in the blood, which is presented in the present paper, proved to have a sensitivity of 75 %, a specificity of 95 %, an accuracy of 87 %. The pVT (+) - value was 92 % and the pVT (-) value was 42 %.

On the basis of the results of the examinations, the quick method for the semi-quantitative measurement of calcium in the blood as described by SANDHOLM et al. (1979) and the altered version of the same test described here can be considered to be a useful diagnostic aid for recognizing cases of hypocalcemia in cattle.

LITERATURVERZEICHNIS

ANKE, M. (1976):

Anorganische Bausteine

in: A. PÜSCHNER u. O. SIMON (Hrsg.): Grundlagen der Tierernährung. 2. Aufl.

Verlag Enke, Stuttgart, S. 57 - 102

BARNEY, D., u. H. SULKOWITCH (1937):

Ein Schnellverfahren zur Kalziumbestimmung im Urin.

J. Urol. 37, 751

BEGEMANN, H. (1982):

Praktische Hämatologie. 8. Aufl.

Verlag Thieme, Stuttgart, New York

BOSTEDT, H., W. WENDT u. R. PRINZEN (1979):

Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum
- klinische und biochemische Aspekte.

Prakt. Tierarzt 60, 18 - 25

BRONSCH, K. (1976):

Stoffwechsel der Mineralstoffe

in: A. SCHEUNERT u. A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der Veterinärphysiologie. 6. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 301 - 311

BUDDECKE, E. (1977):

Grundriß der Biochemie. 5. Aufl.

Verlag der Gruyter, Berlin, New York

CAPEN, CH., W. HIGH u. H. BLACK (1981):

Histomorphometric evaluation of the effects of intermittent 1,25 dihydroxycholecalciferol administration on cortical bone.

Am. J. Pathol. 104, 41 - 49

COLES, E. H. (1980):

Veterinary Clinical Pathology. 3. Aufl.

Verlag Saunders, Philadelphia, London, Toronto

DIRKSEN, G. (1977):

Bewegungsapparat

in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Die klinische Untersuchung
des Rindes. 2. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 450 - 499

EDER, H. (1976):

Blut, Lymphe und andere Körperflüssigkeiten

in: A. SCHEUNERT u. A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der
Veterinärphysiologie. 6. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 403 - 458

FRIMMER, M. (1969):

Pharmakologie und Toxikologie.

Verlag Schattauer, Stuttgart, New York

GERBER, H., u. J. MARTIG (1975):

Normale Serumkonzentrationen von Kalzium, Magnesium und
Phosphor beim Simmentaler Rind.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 117, 365 - 381

HAPKE, H. J., u. E. PRIGGE (1972):

Die Abhängigkeit pharmakologischer und toxischer Wirkungen
verschiedener Kalziumsalze von deren Ionisationsgrad.

Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 79, 545 - 550

HARRY, K. P. (1973):

Untersuchungen zur Bestimmung des Kalziumgehaltes im
Blutserum und im Harn des Rindes mit Hilfe von Schnelltests.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

KIRCHGESSNER, M. (1975):

Tierernährung. 3. Aufl.

Verlag DLG, Frankfurt a. Main

KMENT, A. (1976):

Endokrinium

in: A. SCHEUNERT u. A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der
Veterinärphysiologie. 6. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 33 - 90

MAREK, J. (1956):

Physikalisch- chemische Blutuntersuchung

in: J. MAREK u. J. MOCSY (Hrsg.): Lehrbuch der klinischen
Diagnostik der Inneren Krankheiten der Haustiere. 5. Aufl.

Verlag Fischer VEB, Jena, S. 504 - 543

MARTIG, J., H. GERBER u. M. BERGER (1974):

Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines Stalltestes
zur Bestimmung des Kalziumgehaltes im Blut von Kühen.

Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 81, 132 - 135

MAYER, G. P., F. RAGGI u. C.F. RAMBERG (1965):

A rapid semiquantitative test for serum-calcium suitable
for field use.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 146, 839 - 842

MOODIE, E. W. (1960):

Some aspects of hypocalcaemia in cattle.

Vet. Rec. 72, 1145 - 1148

MÜLLING, M. (1974):

Mineralstofferkrankungen beim Rind.

Tierärztl. Praxis 2, 21 - 28

REITZ, O. (1978):

Untersuchungen über die Durchführbarkeit und Zuverlässigkeit eines Schnelltestes zur Blutkalziumbestimmung in der Rinderpraxis.

Gießen, Univ., Fachber. Veterinärmed. u. Tierzucht, Diss.

SACHS, M. (1974):

Kalzium- u. Phosphorstörung beim Rind.

Prakt. Tierarzt 55, 35 - 38

SANDHOLM, M., G. JÖNSSON, B. PEHRSON u. G. ZEVI (1979):

A New Rapid Method for Determination of Blood Calcium in Cows.

Zbl. Vet. Med. A 26, 411 - 416

SCHOLE, J., H. ERBERSDOBLER u. H. TIEWS (1976):

Die Vitamine

in: A. SCHEUNERT u. A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der Veterinärphysiologie. 6. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 269 - 299

SIMESSEN, M. (1980):

Calcium, Phosphorus, and Magnesium Metabolism

in: J. KANEKO (Hrsg.): Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 3. Aufl.

Academic Press, New York, S. 576 - 648

STÖBER, M. (1978 a):

Störungen des Mineralstoffwechsels

in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Krankheiten des Rindes. 2. Aufl.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 985 - 1009

STÖBER, M. (1978 b):

Allergosen, Sensibilitätsreaktionen, hämorrhagische
Diathesen und Schädigungen durch physikalische Reize
in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Krankheiten des Rindes. 2. Aufl.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 1302 - 1333

STÖBER, M. (1978 c):

Krankheiten des Lymphapparates
in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Krankheiten des Rindes. 2. Aufl.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 51 - 83

STÖBER, M., u. G. DIRKSEN (1980):

"Festliegen" des Rindes: Differentialdiagnostik und -therapie
Prakt. Tierarzt 61, 53 - 62

STÖBER, M. u. H.D. GRÜNDER (1977):

Kreislauf
in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Die klinische Untersuchung
des Rindes. 2. Aufl.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 115 - 181

STRAUB, P. W. (1979):

Intravasale Gerinnung: Symptom oder Krankheit?
Schweiz. med. Wochenschr. 109, 1351

VECCHIO, T. (1950):

Predictive value of a single diagnostic test in unselected
populations.
N. Engl. J. Med. 274, 1171 - 1173

WIRTH, D. (1950):

Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere. 2. Aufl.
Verlag Urban u. Schwarzenbeck, Wien, Innsbruck

ZEROBIN, K. (1976):

Physiologie der Milchsekretion
in: A. SCHEUNERT u. A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der
Veterinärphysiologie. 6. Aufl.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 769 - 793

Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. G. Dirksen danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für seine freundliche Beratung während meiner Arbeit.

Ganz besonders möchte ich Herrn Dr. W. Klee danken, der mich jederzeit mit fachlichem Rat und großem persönlichen Einsatz unterstützte.

Herrn Dr. D. Schillinger danke ich für seine Anregungen zur Thematik.

Allen Assistenten und Angestellten der II. Medizinischen Tierklinik möchte ich für die stets freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit danken.

Für die Vermittlung von Patientenmaterial danke ich besonders herzlich meinem Vater Herrn Dr. H. Linhart.

Für die stets zuverlässige Ausführung der Schreibarbeiten danke ich sehr herzlich meiner Frau Susanne Linhart.

LEBENS LAUF

Am 27. September 1955 wurde ich, Axel Linhart, als Sohn des Tierarztes Dr.med.vet. Horst Linhart und seiner Ehefrau Erika, geb. Chormann, in München geboren.

Von 1961 bis 1966 besuchte ich in Grafing bei München die Volksschule und anschließend das neusprachliche Gymnasium in Grafing, wo ich 1976 das Reifezeugnis erhielt.

Von November 1976 bis November 1977 arbeitete ich als Anlernlaborant am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayerns in Oberschleißheim.

Im Wintersemester 1977/78 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin, das ich am 21. Januar 1983 mit der Tierärztlichen Prüfung abschloß.

Die Approbation als Tierarzt erhielt ich am 22. Februar 1983. Seither arbeite ich als Assistent in der Praxis meines Vaters mit, wo ich mich zugleich mit dem experimentellen Teil vorliegender Arbeit befaßte.



